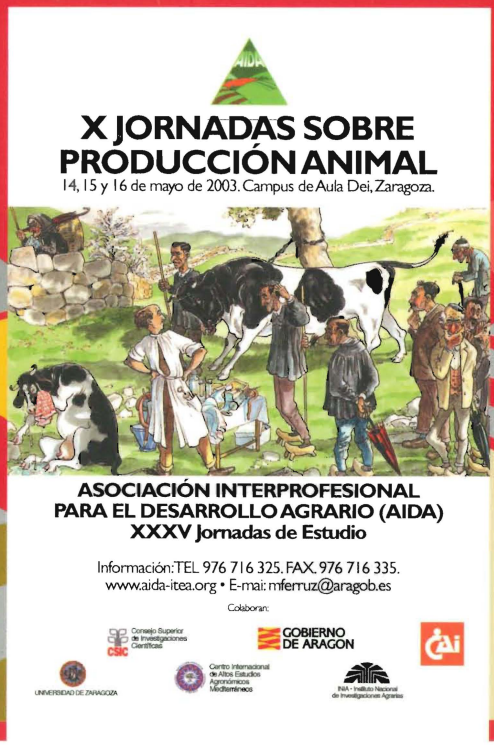
ITEA

Volumen Extra, Número 24 - Tomo II (2003)

X JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL

ASOCIACION INTERPROFESIONAL
PARA EL DESARROLLO AGRARIO



ASOCIACION INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO (AIDA)

XXXV JORNADAS DE ESTUDIO

X JORNADAS

SOBRE PRODUCCION ANIMAL

14, 15 y 16 de Mayo de 2003

Zaragoza

TOMO II

COLABORAN:

Gobierno de Aragón: Departamento de Agricultura
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)
Caja de Ahorros de la Inmaculada (CAI)
Universidad de Zaragoza
Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA)

I T E A

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

SECRETARIO:

RAFAEL DELFA BELENGUER

COORDINADORES DE SECCION:

Genética: LUIS ALBERTO GARCIA CORTES
Patología: CLARA Mª MARIN ALCALA
Nutrición-Alimentación Animal: MARGARITA JOY TORRENS
Sistemas Ganaderos- Economía y Gestión: ISABEL CASASUS PUEYO
Calidad de los productos: PERE ALBERTI LASALLE
Reproducción: JOSE LUIS ALABART ALVAREZ

Secretaría: Mercedes Ferruz Andrés

Mayo 2003 Volumen Extra Número 24 tomo II	**DIRECCION Y REDACCION** Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 1130-6009 INO Reproducciones, S.A. 50013 Zaragoza

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

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

INDICE

TOMO II

GENETICA

Genética: QTL 1 Pág.

- Resultados preliminares de un estudio de QTL en el cromosoma 6 bovino para caracteres de producción lechera en una población frisona Asturiana.- Alvarez I., Arranz J.J., Fernández I., Royo L.J., Goyache F. 423
- Análisis de polimorfismos y localización cromosómica del gen acil-coa:diacilglicerol aciltransferasa 1 (DGAT 1) en porcino Mercadé A., Varona L., Sánchez A., Folch J.M. 426
- Polimorfismo del gen del receptor de estrógenos B (ESR2) en cerdos Ibéricos.- Muñoz G., Ovilo C., Castellanos C., Rodríguez C. 429
- Búsqueda de SNPs en genes candidatos relacionados con la calidad de carne en la especie bovina.- Checa M.L., Miranda M.E., Amarger V., Crisa A., Delourme D., Leveziel H., Marchitelli C., Razzaq N., Valentini A., Williams J., Dunner S. 432
- Detección de QTL con efectos en caracteres relacionados con la capacidad maternal en un cruce f2 entre cerdo Ibérico y Meishan.- Tomás A., Varona L., Ramírez O., Gómez-Raya L., Rodríguez M.C., Sánchez A., Noguera J.L. 435

Genética: QTL 2

- Análisis de asociación entre el gen PrP y la producción de leche en un rebaño de ovejas Assaf.- Parada A., Marcotegui N., Alfonso L., Arana A. 438
- Discriminación de heterocigotos en el gen PrP ovino.- Parra D., Cañón J., Dunner S.. 441
- Análisis de la variabilidad del gen de la oxitocina ovina en la raza Churra.- Morán J.A., Arranz J.J., San Primitivo F. 444
- Polimorfismo del gen vascular cell-adhesion molecule 1 (VCAM1) porcino.- Ramírez O., Blanch M., Amills M., Noguera J.L., Sánchez A. 447
- Caracterización de genes clave en el metabolismo de la grasa en rumiantes: aislamiento, localización y búsqueda de variación.- Roy R., Ordovas L., Gautier M., Hayes H., Zaragoza P., Eggen A., Rodellar C. 450

Genética: Análisis de supervivencia

- Supervivencia hasta el destete de lechones f2 Ibérico x Meishan.- Casellas J., Noguera J.L., Varona L., Sánchez A., Arqué M., Piedrafita J. 453
- El uso de la predicción de genotipos en el análisis de supervivencia: un caso de scrapie.- Díaz C., Vitezica Z., Rupp R., Elsen J.M. 456
- Análisis de los factores que influyen en la supervivencia del conejo de carne.- Sánchez J.P., Peiró R., Silvestre M.A., Baselga M. 459

Genética: Selección

- Detección de la potencial respuesta indirecta a la selección sin estimación previa de la correlación genética.- Altarriba J., Varona L., Moreno C., Yagüe G., Sañudo C. 462

- Estudio del desarrollo del feto y su supervivencia en un experimento de selección divergente por capacidad uterina en conejo.- Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 465
- Respuesta a la selección en el cruzamiento doble en el conejo de carne.- Costa C., Baselga M., Silvestre M.A., Sánchez J.P. 468
- Estudio del desarrollo embrionario temprano en dos líneas de conejos seleccionadas divergentemente por capacidad uterina.- Mocé M. L., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 471

Genética: Genética Molecular

- Riesgo genético del ovino Aragonés a la enfermedad de scrapie.- Acín C., Martín-Burriel I., Lyahyai J., Monleón E., Rodellar C., Badiola J.J., Zaragoza P. 474
- Efecto del polimorfismo genético de la caseína alfa-s1 sobre los contenidos de caseínas alfa-s1 y alfa-s2 en la leche de las razas caprinas Malagueña y Murciano-Granadina.- Agüera P., Urrutia B., Sánchez A., Aranda C., Ares J.L., García-Risco M.R., Carrizosa J., Fálagan A., Amigo L., Amills M., Sánchez A., Serradilla J.M. ... 477
- Determinación del genotipo del locus PRNP en el ganado ovino mediante "primer extensión".- Alvarez L., Arranz J.J., San Primitivo F. 480
- Secuencia nuceotídica y polimorfismo del gen de la 2,4-dienoil-CoA reductasa (DECR) porcina.- Amills M., Vidal O., Varona L., Tomás A., Sánchez A. 483
- La disrupción del gen de la PLC-b1 en una línea de ratones transgénicos para la bLG caprina afecta a su crecimiento y fertilidad.- Ballester M., Ibañez E., Santaló J., Sánchez A., Folch J.M. 486

Genética: Diversidad Genética

- Estimación del tiempo desde la divergencia de ascendientes de cerdos Asiáticos y Europeos basada en ADN mitocondrial.- Alves E., Ovilo C., Rodríguez C., Silió L. . . 489
- Biodiversidad de razas de gallinas basada en microsatélites. Resultados del proyecto AVIANDIV con dos razas españolas.- Campo J.L., Gil M.G. 492
- Aplicación del análisis de clusters genéticos a la asignación de individuos a poblaciones porcinas.- Fabuel E., Barragán C., Silió L., Toro M. 495
- Trazabilidad del origen genético de cerdos Ibéricos y cruzados con Duroc.- Fernández A., Alves E., Ovilo C., Rodríguez C., Silió L. 498
- Genotipado del locus extensión (Mc1r) en cinco razas bovinas Españolas de capa castaña.- Royo L.J., Alvarez I., Luque A.J., Fernández I. , Argüello S. de, Molina A., Robles M., Goyache F. 501

Genética: Parámetros Genéticos

- Parámetros genéticos de los caracteres de fertilidad en el vacuno de leche.- González O., Pérez-Cabal M.A., Alenda R. 504
- Factores ambientales y genéticos de influencia en el período entre parto y concepción en la raza Asturiana de los valles.- Gutierrez J.P., Fernández I., Royo L.J., Alvarez I., Goyache F. 507
- Parámetros genéticos para el recuento de células somáticas en ovejas de raza Latxa.- Ugarte, E., Arranz J., Arrese F. 510
- Parámetros de cruzamiento de caracteres productivos en el conejo de carne.- Piles M., Gómez E.A., Rafel O., Ramon J. 513

Genética: Sesión de Poster

- Relación de caracteres de conformación con longevidad funcional en ganado frisón utilizando técnicas de análisis de supervivencia.- Chirinos Z., Hernández D., Carabaño M.J. 516
- Estimación de parámetros genéticos del peso vivo en los primeros 75 días de edad en ovino Merino Español.- Menéndez A., Serradilla J.M., Valera M., Molina A. 519
- Análisis preliminar de variables fisiológicas y de vitalidad en lechones F_2 Ibérico x Meishan.- Casellas J., Gómez-Raya L., Piedrafita J., Sánchez A., Arqué M., Noguera J.L. 522
- Evaluación de la variabilidad genética en pequeñas poblaciones. Utilización de caracteres cuantitativos en la oveja Xalda de Asturias.- Gutierrez J.P., Fernández I., Royo L.J., Alvarez I., Goyache F. 525
- Caracterización morfológica de la raza ovina Xisqueta por Comarcas.- Avellanet R., Jordana J. 528
- Caracterización del gen del receptor de la prolactina (*PRLR*) porcino.- Tomás A., Amills M., Noguera J.L., Sánchez A. 531
- Primeros estudios de caracterización genética de la raza bovina Mallorquina.- Martín-Burriel I., Osta R.,Puigserver G., Rodellar C., Zaragoza P. 534
- Análisis del ADN mitocondrial en poblaciones asnales.- Aranguren-Mendez J.A., Beja-Pereira A., Avellanet R., Dzma K., Jordana J. 537
- La miostatina como proteína dominante negativa: su interacción in vitro mediante la estrategia de pulldown.- Fernández C., Delgui L., Cañón J., Dunner S. 540
- Estudios genéticos en perdiz roja Española (Alectoris Rufa L.).- García C.B., Arruga M.V. 543
- Optimización de un método de análisis cuantitativo de las caseínas α_{s1} y α_{s2} mediante electroforesis capilar.- Gómez J.A., Agüera P., Amigo L., Serradilla J.M. 546
- Diagnóstico de un caso de freemartinismo ovino en la raza Rasa Aragonesa.- Ponz R., Arruga M.V. 549
- Polimorfismo de los genes de la malato deshidrogenasa (MDH1) y del enzima málico (ME1) porcinos.- Vidal O., Gómez Raya L., Sánchez A., Amills M. 552
- Factores ambientales que afectan a la curva de crecimiento de corderos de la raza Merina.- Menéndez A., Valera M., Serradilla J.M., Molina A. 555
- Caracteres de lactación en cabras Murciano-Granadinas de la Comunidad Valenciana: estudios preliminares sobre los factores de variación.- Gómez E.A., Silvestre M.A., Martínez B., Peris C. 558

Genética: Metodología y Modelos

- Estimación del número de datos faltantes en poblaciones seleccionadas.- Yagüe G., Moreno C., García-Cortés L.A., Altarriba J. 561
- Mejora del modelo de valoración genética actual para el carácter facilidad de parto en ganado vacuno frisón.- López de Maturana E., Ugarte E., Ugarte C. 564
- Uso de la correlación del error de predicción como medida de la conexión entre grupos de comparación.- Moreno A., Carabaño M.J., Díaz C. 567
- Pleiotropia o ligamiento. Factor de Bayes vs minimos cuadrados multivariantes.- Varona L., Gómez-Raya L., Rauw W.M., Noguera J.L. 570

- Robustez de los métodos de control de la consanguinidad en poblaciones de censo reducido ante situaciones prácticas.- Fernández J., Toro M.A., Caballero A. . 573

Genética: Miscelánea

- Efecto de la proporción de sexos en la duración de la inmovilidad muscular y el cociente de leucocitos. Interacción con la raza.- Dávila S.G., Campo J.L. 576
- Relación entre baño de arena y respuesta al estrés y al miedo en razas de gallinas ponedoras de huevo blanco, crema o marrón.- Muñoz I., Campo J.L. 579
- El carácter rentabilidad en vacuno de leche.- Pérez-Cabal M.A., Alenda R. 582
- Evolución del IGF-1 plasmático en dos tipos genéticos de cerdos y aves.- Tor M., Robles O., Villalba D., Cubiló D., Molina E., Noguera J.L., Francesch A., Estany J. .. 585

NUTRICION-ALIMENTACION ANIMAL

Nutrición-Alimentación Animal: Alimentación/Síntesis microbiana

- Estrategias de alimentación basadas en la libre elección de alimentos en el cebo de corderos de raza Assaf.- Rodríguez A.B., Landa R., Giráldez F.J., Frutos P., Mantecón A.R. 591
- Efecto de la ingestión de forraje y concentrado sobre el peso vivo de corderos de 45 a 90 días de edad.- Gómez S., Landi H., González C., Bilbao G., Castro A., Lupidio C. 594
- Efecto de la utilización de heno (Brachiaria humidicola) "Amonificado en seco" y la suplementación con melaza sobre la evolución de parámetros productivos y digestivos de ovinos en crecimiento.- Camacho S., Santos M., Avila L., Barrios A., Ventura M. 597
- Efecto del uso de maíz modificado con los genes MON810 y GA21 sobre la ingestión de materia seca, y la producción y composición de la leche en vacas Holstein.- Calsamiglia S., Hernández B., Hartnell G.F., Phipps R.H. 600
- Excreción de creatinina y evolución de la relación alantoína/creatinina en animales consumiendo diferentes proporciones de cebada en grano y paja.- Valiente O., Delgado P., de Vega A., Balcells J. 603
- Síntesis de proteina microbiana en vacas lecheras: evaluación de diferentes métodos de estudio.- Balcells J., González-Ronquillo M., Belenguer A., Guada J.A. 606
- Contribución microbiana al flujo duodenal de proteina en corderos en crecimiento: Efecto de la edad y el lugar de muestreo.- Askar A.R., Guada J.A., Balcells J., Castrillo C., Fondevila M. 609
- Criopreservación del protozoo ruminal Entodinium Caudatum: Efecto de la rampa de descenso de temperatura.- Fuente G. de la , Fondevila M., Cebrian J.A. 612

Nutrición-Alimentación Animal: Analítica-Valoración

- Efecto del modo de conservación de la alfalfa sobre su composición química y fracciones proteicas de hojas y tallos.- Vicente F., Castrillo C., Mota M., Valiente O., Domínguez I.A. 615
- Efecto de la temperatura y del tipo de envase sobre la conservación de muestras de distintos alimentos.- Gómez Cabrera A., Isac M.D., Arana M.J., Pérez M.D., Garrido A. 618

- Efecto del extrusionado y cocido laminado del maíz, trigo, cebada, avena y guisante sobre la solubilidad de los polisacaridos no amiláceos y la digestión del almidón.- Anguita M., Pérez J.F., Martin-Orúe S., Castillo M. 621
- Validación de la técnica de los N-alcanos para estimar la digestibilidad de la dieta y la selección de alimentos concentrados por corderos en cebo.- Askar A.R., Vega A. de, Valiente O., Guada J.A. 624
- Utilización de diferentes estándares para el análisis de taninos condensados en especies vegetales.- Alvarez M. Hervás G., Giráldez F.J., Mantecón A.R., Frutos P. . 627
- Estimación de los contenidos de distintas fracciones nitrogenadas de la hierba empleando tecnología NIRS.- Andrés S., Valdés C., García R., Giráldez F.J., Calleja A. 630
- Predicción mediante tecnología NIRS de los parámetros cinéticos de degradación ruminal de la proteína bruta de forrajes.- Andrés S., Calleja A., Peláez R., López S., Mantecón A.R., Giráldez F.J. 633

Nutrición-Alimentación Animal: Monogástricos I

- Estudio del gluten del trigo como fuente de proteina en dietas para lechones en transición.- Blasco M., Fondevila M., Guada, J.A. 636
- Efectos de los extractos de plantas, en combinación con ácido fórmico, sobre el equilibrio digestivo de lechones destetados precozmente.- Manzanilla E.G., Martín M., Baucells F., Pérez J.F., Gasa J. 639
- Influencia del tipo de cereal y su tratamiento térmico sobre la productividad de lechones.- Valencia D.G., Latorre M.A., Lázaro R., Martín F., Mateos G.G. 642
- Efectos de la inclusión de almidón resistente en la ración sobre los flujos circulatorios de glucosa e insulina y la actividad lipogénica en tejido graso y muscular de los cerdos en crecimiento.- Martinez-Puig D., Perez J.F., Mourot J., Anguita M. 645
- Aplicación de la PCR a tiempo real en la cuantificación de bacterias en yeyuno distal en lechones en transición.- Castillo M., Martin-Orúe S.M., Badiola I., Martín M., Manzanilla E.G. 648

Nutrición-Alimentación Animal: Monogástricos II

- Efecto del nivel y del tamaño de la fibra sobre la digestión de gazapos destetados precozmente.- García J., Palacín N., Nicodemus N., Carabaño R, Blas C. De 651
- Reciclaje de proteína en conejos: incorporación de lisina microbiana en animales en crecimiento como método de medida.- Belenguer A., Balcells J., López C., Abecia L., Decoux M. 654
- Efecto de la cecotrofia sobre la composición química de la digesta y sobre la digestibilidad ileal.- Merino J.M., Carabaño, R. 657
- Estudio del tejido linfoide asociado a intestino en gazapos en torno al destete.- Campín J., Eiras P., Rebollar P.G., Carabaño R. 660
- Efecto de la adición de fitasa microbiana en la retención de minerales en pollos Broiler, con o sin inactivación de la fitasa endógena del cereal.- Juanpere J., Pérez A.M., Brufau J. 663

Nutrición-Alimentación Animal: Digestibilidad I

- Degradación ruminal de las semillas de girasol y cártamo.- González J., Andrés S.G. 666
- Determinación "in situ" del valor nitrogenado de la semilla de algodón.- González J., Faria-Marmol J., Alvir M.R., Rodríguez C.A. 669

- Efecto del pH sobre la fermentación ruminal in vitro.- Bodas R., Newbold C.J., López S. 672
- Efecto de la defaunación ruminal sobre los parámetros de fermentación 'in vitro'.- García R., Newbold C.J., López S. 675
- Efectos de pH, temperatura y dosis de inclusión sobre la actividad celulolítica de productos comerciales con enzimas fibrolíticos.- González E., Albanell E., Caja G., Casals R. 678
- Digestibilidad 'in vitro' de forrajes: efecto del tratamiento con enzimas fibrolíticas.- Carro M.D., Ranilla M.J., Mohamed A.H., Tejido M.L. 681

Nutrición-Alimentación Animal: Digestibilidad II

- Efecto del tratamiento de heno de alfalfa con quebracho sobre su digestibilidad en el ganado caprino.- Salem A.Z.M., González J.S., López S., Ranilla M.J., Andrés S. . 684
- Degradación ruminal de fuentes proteicas de origen vegetal estimada 'in situ' en terneras en cebo intensivo.- Rotger A., Martínez J., Ferret A., Calsamiglia S., Manteca X. 687
- Utilización de proteasa de Streptomyces Griseus para la estimación de la degradabilidad ruminal de la proteina de piensos compuestos y mezclas.- Vicente F., Roza B. de la , Modroño S., Martínez A., Argamentería A. 690
- Efecto de la extrusión sobre la cinética de degradación de la proteína de distintos suplementos proteicos.- Solanas E., Castrillo C., Jover M., Serrano X., Vega A. de . 693
- Estimación de la digestibilidad intestinal de la proteína no degradada en rumen de diferentes suplementos proteicos mediante métodos "in situ" e "in vitro".- Solanas E., Castrillo C., Balcells J., Fondevila M., Guada J.A. 696
- Efectos del pH sobre la fermentación microbiana ruminal en cultivos continuos alimentados con dieta alta en concentrado.- Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A. .. 699

Nutrición-Alimentación Animal: Digestiblidad III

- Efectos de la inclusión de proteína no degradable en el rumen sobre la fermentación microbiana y el flujo de aminoácidos en un sistema de cultivo continuo.- Gargallo S., Calsamiglia S., Ferret A. 702
- Efecto del pH y la tasa de dilución sobre el perfil y el flujo de aminoácidos de origen bacteriano en un sistema de cultivo continuo.- Rodríguez M., Calsamiglia S., Ferret A. . 705
- Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de maíz mediante la técnica de producción de gas.- García-Rodríguez, A., Igarzabal A., Lorenzo L., Oregui L.M., Flores G. 708
- Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. I. Cálculo de las ecuaciones de predicción.- García-Rodríguez A., Igarzabal A., Lorenzo, L., Oregui L.M., Flores G. 711
- Predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas. II. Validación de las ecuaciones de predicción.- García-Rodríguez A., Lorenzo L., Igarzabal A., Oregui L.M., Flores G. 714
- Sintesis microbiana en fermentadores semicontinuos (Rusitec): Efecto del tipo de fuente de nitrógeno (amoniaco vs proteina).- Tejido M.L., Carro M.D., López S., Ranilla M.J. 717

Nutrición-Alimentación Animal: Aditivos/Fermentación I

- Efecto de la adición de enzimas exógenas y del pH sobre la fermentación ruminal

de dietas mixtas en un sistema de cultivos continuos.- Hervás G., Colombatto D., Vedres D.D., Furtado A.F., Yang W.Z., Beauchemin K.A. 720

- Estudio del efecto de una mezcla de aceites esenciales y el tipo de ración sobre la fermentación microbiana ruminal y el flujo de nutrientes en un sistema de cultivo continuo.- Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A., Losa R. 723
- Estudio del efecto de dosis crecientes de una mezcla de aceites esenciales sobre el metabolismo nitrogenado y el perfil de fermentación en un sistema de cultivo continuo.- Castillejos L., Calsamiglia S., Ferret A., Losa R. 726
- Efecto del cinamaldehído y el extracto de ajo sobre la degradación de proteína y el perfil de fermentación en cultivos continuos.- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 729
- Efecto de los extractos naturales sobre la degradación de proteínas y el perfil de fermentación en cultivos continuos.- Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. . . 732
- Efectos de los extractos naturales de plantas sobre la degradación de la proteina y el perfil de fementación en cultivos continuos.- Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 735

Nutrición-Alimentación Animal: Aditivos/Fermentación II

- Efecto de los aceites esenciales de diferentes plantas medicinales sobre la fermentación ruminal 'in vitro'.- Fernández M., García R., Serrano E., Bodas R., González J.S., López S. 738
- Efecto de la adición de fumarato y aspartato sobre la fermentación ruminal 'in vitro' de granos de cereales.- Ranilla M.J., Carro M.D. 741
- Fermentación 'in vitro' de raciones con diferentes proporciones de forraje y concentrado: efecto de la adición de malato disódico.- García R., Ranilla M.J., Tejido M.L., Carro M.D. 744
- Efectos del malato (Rumalato) en piensos de engorde de corderos a base de cebada o maíz: II Digestibilidad de nutrientes.- Flores C., Caja G., Romero R., Mesiá J. . 747
- Optimización de un método microbiológico para la detección de monensina sódica en pienso.- Prieto N., Castro L.J., Mora M.J., Lavín P., Mantecón A.R. 750

Nutrición-Alimentación Animal: Aditivos/Producción

- Ingestión voluntaria y fermentación ruminal de paja tratada con diferentes niveles de extracto vegetal orgánico de remolacha (vinaza).- Fernández B., Hervás G., Giráldez F.J., Frutos P., Mantecón A.R. 753
- Efecto del extracto de ajo y/o el cinamaldehído sobre la producción, composición y residuos en leche en vacas de alta producción.- Busquet M., Greathead H., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C. 756
- Resultados del empleo de enzimas fibrolíticas (Promote) en el concentrado de ovejas Manchegas y Lacaune durante los periodos de cría y ordeño.- Flores C., Caja G., Casals R. Albanell E., Such X., Vera G., González E. 759
- Efecto de la inclusión de malato en el pienso de corderos en cebo, sobre la ingestión, la digestibilidad y el rendimiento productivo.- Cuesta A., Ranilla M.J., Giráldez F.J., Mantecón A.R., Carro M.D. 762
- Efectos del malato (Rumalato) en piensos de engorde de corderos a base de cebada o maíz: I Rendimientos productivos.- Flores C., Caja G., Romero R., Mesiá J. . . 765
- Efecto de la inclusión de bicarbonato sódico en la ración de corderos en la fase de cebo.- Bodas R., Mantecón A.R., Frutos P., López S., Giráldez F.J. 768

SISTEMAS GANADEROS-ECONOMIA Y GESTION

Sistemas Ganaderos-Economía y Gestión: Tipificación

- El ganado vacuno de raza Pirenaica de la Comunidad Autónoma del País Vasco. 1. Características de las explotaciones.- Mandaluniz N., Amenabar, M.E., Oregui L.M. . 773
- El ganado vacuno de raza Pirenaica de la Comunidad Autónoma del País Vasco. 2. Indices reproductivos.- Mandaluniz N., Amenabar, M.E., Oregui L.M. 776
- Tipología de las explotaciones de vacuno en el Maestrazgo Turolense.- Flores N., Nuez T., Rodríguez J., Delgado I. 779
- Evolución de los censos ganaderos y características de las explotaciones de ganado vacuno de la Montaña de León.- Serrano E., Lavin P., Giráldez F.J., Mantecón A.R. 782
- Tipología de explotaciones de ganado vacuno de la Montaña de León.- Serrano E., Bernués A., Giráldez F.J., Lavín P., Mantecón A.R. 785
- Características técnicas y de las instalaciones de las explotaciones de ganado vacuno de la Montaña de León.- Serrano E., Lavin P., López J., Mantecón A.R. 788
- Aprovechamiento de recursos alimenticios en las explotaciones de vacuno de cría de las sierras de la Rioja.- Casasús I., Manrique E., Revilla R. 791
- Diseño de un sistema de producción de porcino al aire libre en la Comunidad Autónoma del País Vasco.- Ruiz R., Domingo A., Oregui L.M. 794
- Características productivas en explotaciones ovinas de raza Assaf en la provincia de León.- Diez P., Martínez Y., Villadangos B., Huerga E., Mantecón A.R. 797
- El sector ovino en la Argentina. I: antecedentes y situación actual.- González C.A. . 800
- El sector ovino en la Argentina. II: competitividad y perspectivas.- González C.A. . . 803

Sistemas Ganaderos-Economía y Gestión: Comercialización/Costes

- Análisis comparativo de los sistemas de producción, distribución y control de carnes de vacuno certificadas.- Maza M.T., Ramírez V. 806
- Diseño e implementación de un sistema integral de producción y comercialización conjunta de cordero de calidad en la isla de Mallorca (Islas Baleares). Resultados preliminares.- Joy M., Cifre J., Vera M.R., Rigo A. 809
- Estructura de preferencias de los consumidores de carne de cordero en Castilla-La Mancha.- Bernabéu R., Tendero A., Olmeda M., Castillo S. 812
- Análisis comparativo de costes en explotaciones de vacuno lechero de la Unión Europea.- Reyes E., Milán M.J., Baucells J., Calsamiglia S. 815
- Resultados reproductivos y costes de alimentación en la diferenciación de grupos de explotaciones de ovino de carne.- Chertouh T., Olaizola A., Manrique E., Olivan A. 818

Sistemas Ganaderos-Economía y Gestión: Aspectos productivos

- Efecto de la edad sobre la evolución de la condición corporal y del peso vivo de vacas Avileñas.- López-Carrasco C., Daza A., Rodríguez R. 821
- Evaluación del peso al destete de animales Brahman puro y F1 Holstein-Brahman en condiciones de trópico Venezolano.- Vitto R., Rangel A., Ciria J. 824
- Variación y efecto del año en los resultados del cebo de terneros de raza Morucha.- Alvarez S. 827

- Comprobación del control lechero oficial en ovejas de raza Manchega.- Arias R., Pérez-Guzman M.D., Alcaide V., García-Cervigón M., Gallego R., Montoro V. 830
- Desarrollo de un modelo de rebaño para simular la lactación en los sistemas de producción de la oveja Latxa.- Ruiz R., Oregui L.M. 833
- Producción herbácea, composición química y botánica de los brezales del Plá de la Calma (P.N. Montseny).- Lopez T.Z., Plaixats J., Bartolomé J., Albanell E. 836

AUTORES	Páginas
Abecia J.A.	342, 345
Abecia L.	654
Acero P.	157, 160
Acín C.	474
Adelantado C.	387
Aduriz G.	411
Agüera P.	477, 546
Aguilar B.	282, 288
Alabart J.L.	282, 306, 348, 351, 354, 360
Alabern X.	205
Albanell E.	172, 678, 759, 836
Albardíaz M.A.	40
Albarracín J.L.	273
Albertí P.	67, 70, 73, 76
Alcaide V.	830
Alcalde M.J.	19
Aldai N.	94
Aleixandre R.	312
Alenda R.	504, 582
Alfonso L.	64, 438
Almería S.	387, 390, 393
Alonso J.	79
Altarriba J.	462, 561
Althaus R.L.	166
Alvarez M.	627
Alvarez M.J.	40
Alvarez S.	40
Alvarez I.	79, 423, 502, 507, 525
Alvarez L.	480
Alvarez S.	827
Alvarez V.	411
Alvariño J.M.R.	184, 187, 363, 366
Alves E.	489, 498
Alvir M.R.	669
Alzón M.	70, 139, 148
Amarger V.	432
Amenabar M.E.	773, 776
Amigo L.	546, 477
Amills M.	447, 477, 483, 531, 552
Amorena B.	405, 408, 411
Andrés S.G.	666
Andrés D. de	405, 408, 411
Andrés S.	151, 411, 630, 633, 684
Anguita M.	621
Anguita M.	645
Arana A.	139, 148, 438
Arana M.J.	618
Aranda M.L.	354
Aranguren-Mendez J.A.	537
Argamentería A.	690
Argente M.J.	465
Argüello S. De	501
Arias R.	830
Ariño B.	250, 253, 256
Arqué M.	453, 522
Arranz J.	510
Arranz J.J.	423, 444, 480
Arrese F.	510
Arruga M.V.	543, 549
Asenjo B.	133, 232, 396
Askar A.R.	609, 624
Avellanet R.	528, 537
Averós X.	184, 187, 363, 366
Avila L.	597
Ayadi M.	169
Badía S.	291
Badiola I.	648
Badiola J.J	408, 474
Bahamonde A.	79
Balasch S.	175, 181
Balcells J.	603, 606, 609, 654, 696
Ballester M.	486
Barragán C.	495
Barrios A.	597
Barrios B.	315
Bartolomé J.	836

AUTORES	Páginas
Baselga M.	459, 468
Batista S.	106, 142
Baucells F.	639
Baucells J.	815
Beauchemin K.A.	720
Beja-Pereira A.	537
Belenguer A.	606
Belenguer A.	654
Beltrán de Heredia I.	339
Beltrán M.C.	163
Beriain M.J.	64, 97
Bernabéu R.	812
Bernués A.	785
Berriatua E.	411
Berruga Mª.I.	127, 166
Bilbao G.	594
Blanch M.	447
Blanes V.	217
Blas C. de	651
Blasco A.	247, 256, 465, 471, 253
Blasco J.M.	417
Blasco M.	636
Blázquez B.	46, 49, 100, 103, 118, 121
Bodas R.	672, 738, 768
Bodin L.	339
Bosch L.	193
Bravo J.A.	354
Brufau J.	663
Bueno M.S.	106, 142, 145
Busquet M.	729, 732, 756
Buttow-Roll V.F.	235, 238, 241, 244
Caballero A.	573
Cacho E. del	396
Cádavez V.	106, 142, 145
Caja G.	85, 169, 172, 205, 678, 747, 759, 765
Calsamiglia S.	600, 687, 699, 702, 705, 723, 726, 729, 735, 756, 815
Calleja A.	630, 633
Camacho S.	597
Campín J.	660
Campo J.L.	492, 576, 579
Cánovas S.	270
Cañeque V.	118, 121
Cañón J.	441, 540
Carabaño M.J.	516, 576
Carabaño R	651, 657, 660
Carballo J.A.	16
Cardozo P.W.	699, 735
Carrizosa J.	477
Carro M.D.	681, 717, 741, 744, 762
Casals R.	172, 678, 759
Casasús I.	791
Casellas J.	453, 522
Castellanos C.	429
Castillejos L.	723, 726
Castillo M.	621, 648
Castillo S.	812
Castrillo C.	609, 615, 693, 696
Castro A.	594
Castro L.J.	750
Castro P.	25, 43, 58, 61
Castro T.	130, 133
Cebrián-Pérez J.A.	306, 309, 315, 318, 321, 612
Cedrún N.	157, 160
Cepero R.	235, 238, 241, 244
Cerdeño A.	37
Cifre J.	809
Ciria J.	52, 130, 232, 296, 824
Climent A.	465, 471
Cocero M.J.	279, 282, 285, 348, 351, 360
Cognié Y.	282
Colombatto D.	720
Conill C.	205
Cortés M.	190

AUTORES	Páginas
Costa C.	468
Coy P.	270
Crisa A.	432
Cubiló D.	585
Cuesta A.	762
Chacón G.	82, 88, 91, 238, 342
Chaso M.A.	136
Checa M.L.	432
Chertouh T.	818
Chesné P.	282
Chiofalo B.	82
Chiofalo V.	82
Chirinos Z.	516
Daltabuit M.	411
Dávila S.G.	576
Daza A.	196, 199, 202, 821
De Miguel Mª J.	417
Decoux M.	654
Delfa R.	106, 142, 145, 148
Delgado I.	779
Delgado P.	603
Delgui L.	540
Delourme D.	432
Díaz C.	40, 456, 567
Díaz M.T.	118, 121
Diestre A.	181
Díez J.	79
Diez P.	797
Domingo A.	794
Domínguez I.A.	615
Dominguez J.C.T.	357
Dominguez V.	276, 282, 285
Dornand J.	414
Dubey J.P.	390
Dunner S.	432, 441, 540
Dzma K.	537
Echegoyen E.	282, 306, 360,
Eggen A.	450
Eguinoa P.	115, 139, 148
Eiras P.	660
Elsen J.M.	456
Escolar E.	163
Espejo M.	13
Esquiroz M.	64
Estany J.	181, 193, 585
Esteban L.	175
Fabuel E.	495
Fálagan A.	477
Faria-Marmol J.	669
Farriol B.	205
Fernández J.L.	303
Fernández A.	498
Fernández B.	753
Fernández C.	540
Fernández I.	79, 423, 501, 507, 525
Fernández J.	573
Fernández M.	738
Fernández N.	163
Fernández Prieto E.	378, 381
Fernández-Arias A.	282
Fernández-Juan M.	315
Ferrer D.	387
Ferrer L.M.	345
Ferret A.	687, 699, 702, 705, 723, 726, 729, 732, 735, 756
Flores C.	747, 759, 765
Flores G.	708, 711, 714
Flores N.	779
Folch J.	279, 306, 348, 351, 360
Folch J.M.	426, 486
Fondevila M.	609, 612, 636, 696
Forcada F.	342, 345
Francesch A.	585
Frutos P.	591, 627, 753, 768
Fuente G.de la	612
Fuentetaja A.	178, 211
Furtado A.F.	720

AUTORES	Páginas
Gadea J.	270, 330, 333
Gallego L.	127
Gallego R.	830
Garbayo A.	282, 288
García Pastor L.	345
García R.	630, 675, 738, 744
García C.B.	543
García D.	405
García E.	270
Garcia I.	408, 411
García J.	651
García M.D.	208
García P.	25, 55, 58, 61
García S.	13
García U.	55, 58, 61
García-Belenguer S.	82, 88, 91
García-Cachán M.D.	34, 37
García-Cervigón M.	830
García-Cortés L.A.	561
García-García R.M.	276, 282, 285
García-Rodríguez A.	708, 711, 714
Gargallo S.	702
Garín D.	85
Garrido A.	618
Gasa J.	639
Gasbarre, L.C.	390
Gautier M.	450
Ghirardi J.	85, 205
Gil M.G.	492
Giráldez F.J.	112, 591, 627, 630, 633, 753, 762, 768, 782, 785
Gispert M.	181
Glaria I.	405, 408, 411
Goicoechea-Llaque J.	369
Gómez E.	190
Gómez J.A.	546
Gómez C.	399, 402
Gómez Cabrera A.	618
Gómez E.	214
Gómez E.A.	513, 558
Gómez Raya L.	435, 522, 552, 570
Gómez S.	594
González C.	148, 594
González B.	405
González C.A.	800, 803
González de Bulnes A.	279, 282, 285,360
González E.	678, 759
González J.	666, 669
González J.M.	345
González J.S.	151, 154, 684, 738
González O.	504
González-Ronquillo M.	606
González-Stagnaro C.	369, 372, 375
Goñi M.V.	64, 97
Gosálvez L.F.	184, 187, 363, 366
Goyache F.	79, 423, 501, 507, 525
Gracia M.I.	190
Grasa P.	318
Greathead H.	756
Guada J.A.	606, 609, 624, 636, 696
Guárdia M.D.	181
Guerrero L.	22, 256
Guillén P.L.	217, 220, 223
Guirao J.	34, 133
Gutierrez J.P.	507, 525
Hartnell G.F.	600
Hayes H.	450
Hernández B.	600
Hernández D.	516
Hernández F.I.	303
Hernández P.	253, 256
Hernández-Jover M.	85, 205
Hervás G.	627, 720, 753
Horcada A.	40
Huerga E.	797
Ibañez E.	486
Igarzabal A.	708, 711, 714

AUTORES	Páginas
Illera del Portal J.C.	88
Indurain G.	64
Indurain G.	70, 97
Insausti K.	64, 97
Isabel B.	199, 202
Isac M.D.	618
Izquierdo D.	267
Izquierdo M.	13
Izquierdo M.D.	264, 276
Jiménez de Bagües M.P.	414
Jimenez-Macedo A.R.	264, 267
Jimeno V.	130
Jordana J.	528, 537
Jover M.	693
Joy M.	809
Juanpere J.	663
Juste R.	411
Kamel C.	729, 732, 735, 756
Knight C.H.	169
Lahoz F.	73, 76
Lainez M.	217, 220, 223
Lanas S.	115
Landa R.	591
Landi H.	594
Latorre M.A.	211, 214, 642
Lauzurica S.	118, 121
Lavara R.	294, 297, 336
Lavin P.	112, 750, 782, 785
Lázaro R.	211, 214, 642
Leal T.M.	357
Leveziel H.	432
Liotta L.	82
López C.	654
López de Maturana E.	564
López Gallego F.	136
López J.	112, 788
López M.	13
López Parra M.M.	136
López S.	151, 154, 633, 672, 675, 684, 717, 738, 768
López S.L.	357
Lopez T.Z.	836
López-Bejar M.	393
López-Bote C.J.	196, 199, 202
López-Carrasco C.	821
López-Gatius F.	393
Lorenzo L.	708, 711, 714
Lorenzo P.L.	291
Losa R.	723, 726
Luiz Ramella J.	151, 154
Lujan L.	408
Lupidio C.	594
Luque A.J.	501
Lyahyai J.	474
Madrid Bury N.	369, 372, 375
Maldonado M.	52
Mandaluniz N.	773, 776
Manrique E.	791, 818
Manso T.	130, 133
Manteca X.	687
Mantecón A.R.	37, 112, 130, 133, 151, 154, 591, 627, 633, 750, 753, 762, 768, 782, 785, 788, 797
Manzanilla E.G.	639, 648
Marco M.A.	330, 333
Marco-Jimenez F.	261, 270, 300, 324
Marcotegui N.	438
Marchitelli C.	432
María G.A.	82, 235, 238, 241, 244, 342
Marín C.Mª	417
Marti E.	306, 321
Martí J.I.	282, 306, 309
Martín F.	642
Martín M.	639, 648
Martín S.	345
Martín-Burriel I.	474, 534
Martínez A.	22, 25, 43, 55, 58, 61, 690

AUTORES	Páginas
Martínez B.	.558
Martínez E.	.232
Martínez J.	.687
Martínez M.J.	.25, 67
Martínez Y.	.797
Martinez-Cerezo S.	.31, 67, 124
Martinez-Puig D.	.645
Martino A.	.345
Martin-Orúe S.	.621, 648
Matas C.	.267
Mateos G.G.	.211, 214, 642
Matos S.	.106, 142, 145
Maza M.T.	.806
Mazón J.	.324
Medel I.	.109
Medel P.	.178
Mehaisen G.M.K.	.294, 297
Mendizabal J.A.	.70, 139, 148
Menéndez A.	.519, 555
Menéndez J.	.55, 58, 61, 378, 381
Mercadé A.	.426
Merino J.M.	.657
Mesiá J.	.747, 765
Miguel E.	.46, 49, 100, 103, 118, 121
Miguel J.A.	.232, 396
Milán M.J.	.815
Miranda M.E.	.432
Mocé E.	.336
Mocé M. L.	.471
Mocha M.	.25, 43, 67
Modroño S.	.690
Mogas T.	.276
Mohamed A.H.	.681
Molina A.	.166, 501, 519, 555
Molina E.	.585
Molina M.P.	.163, 166
Monleón E.	.474
Monserrat L.	.16
Monsón F.	.7, 10, 28, 31, 109
Montoro V.	.830
Mora M.I.	.405, 408, 411
Mora M.J.	.750
Morán J.A.	.444
Morató R.	.273
Moreno A.	.567
Moreno C.	.462, 561
Moreno T.	.16
Mota M.	.615
Mourot J.	.645
Muiño-Blanco T.	.306, 309, 315, 318, 321
Muñoz G.	.429
Muñoz I.	.579
Muñoz MªP.	.417
Muriel A.	.226, 229
Nájera Al	.94
Nani Costa L.	.82
Navarro J.M.	.175, 312
Newbold C.J.	.672, 675
Nicodemus N.	.651
Nieto M.	.190, 214
Noguera J.L.	.435, 447, 453, 522, 531, 570, 585
Novés B.	.166
Nuez T.	.779
Ochoa J.	.115, 139
Olaizola A.	.818
Oliete B.	.16
Olivan A.	.818
Olivan M.	.22, 25, 43, 67
Oliver M.A.	.181
Olivera J.M.	.348, 351, 360
Olmeda M.	.812
Olleta J.L.	.19, 28, 31, 67, 70, 73, 76, 82, 109, 124
Onega E.	.46, 49, 100, 103, 118, 121
Ordovas L.	.450
Oregui L.M.	.708, 711, 714, 773, 776, 794, 833

AUTORES	Páginas
Osoro K.	22, 25, 43, 55, 58, 61, 67,94, 378, 381
Osta R.	534
Ovejero I.	196
Ovilo C.	429, 489, 498
Pabón M.	393
Palacín N.	651
Palacio J.	88
Palacio Liesa J.	91
Palomares J.L.	312
Palomo M.J.	276
Pando V.	157, 160
Panea B.	19, 28, 31, 67, 70, 73, 76, 109
Paolini S.	163
Parada A.	438
Paramio M.T.	264, 267
Pardos J.J.	28, 31, 76, 109
Parra D.	247, 250, 441
Pascual M.	247
Peinado J.	178
Peiró R.	459
Peláez R.	154, 633
Pereira E.	106, 142, 145
Pérez M.A.	303
Pérez A.M.	663
Pérez C.	118, 121
Pérez de Muniain A.	97
Perez J.F.	621, 639, 645
Pérez M.D.	618
Pérez-Cabal M.A.	504, 582
Pérez-Guzmán M.D.	830
Peris C.	163, 558
Phipps R.H.	600
Piedrafita J.	453, 522
Piles M.	513
Plá M.	247, 250
Plaixats J.	836
Ponz R.	549
Porras C	19
Prieto N.	750
Puchades S.	300
Puigserver G.	534
Puigvert X.	193
Purroy A.	64, 139, 148
Quintero A.	327
Rafel O.	513
Ramirez J.	256
Ramírez O.	435,447
Ramírez V.	806
Ramon J.	513
Rangel A.	824
Ranilla M.J.	681, 684, 717, 741, 744, 762
Rauw W.M.	570
Razzaq N.	432
Rebollar P.G.	291, 660
Recio M.D.	208
Reina R.	405, 408, 411
Revilla R.	91, 791
Revilla I.	40
Reyes E.	815
Rigau T.	327
Rigo A.	809
Ripoll G.	70, 73, 76
Robles A.M.	13
Robles M.	501
Robles O.	585
Roche A.	282, 288, 351, 360
Rodellar C.	450, 474, 534
Rodrigues S.	106, 142, 145
Rodríguez C.	429
Rodriguez P.	136
Rodríguez A.B.	112, 591
Rodríguez C.	489, 498
Rodríguez C.A.	669
Rodriguez Gil J.E.	327
Rodriguez I.	196
Rodríguez J.	779
Rodriguez M.	163, 300, 705
Rodríguez M.C.	435
Rodríguez R.	821
Rodríguez-Urbina M.	369
Rojas C.	276

AUTORES	Páginas
Román-Bravo R.	369
Romar R.	267
Romero R.	747, 765
Rotger A.	687
Roy R.	450
Roy T.J.	354
Royo L.J.	79, 423, 501, 507, 525
Roza B. de la	67, 690
Ruiz S.	330, 333
Ruiz de Huidobro F.	46, 49, 100, 103, 118, 121
Ruiz R.	794, 833
Rupp R.	456
Salama A.A.K.	172
Salem A.Z.M.	684
San Primitivo F.	444, 480
Sánchez A.	426, 435, 447, 453, 477, 483, 486, 522, 531, 552
Sánchez J.	190
Sánchez J.P.	459, 468
Sánchez L.	16
Sánchez M.P.	354
Sánchez P.	282, 360
Sansegundo M.	333
Santacreu M.A.	465, 471
Santaló J.	486
Santos M.	597
Sanz A.	91
Sañudo C.	28, 31, 67, 70, 73, 76, 82, 109, 124, 462
Sarries M.V.	64
Segura C.	175
Sellés E.	330, 333
Serradilla J.M.	477, 519, 546, 555
Serradilla V.	199
Serrano E.	738, 782, 785, 788
Serrano X.	693
Sierra I.	7, 10, 19, 109
Silió L.	489, 495, 498
Silvestre M.A.	459, 468, 558
Simplício A.A.	357
Solanas E.	693, 696
Sousa P. H.F.	357
Such X.	169, 172, 759
Teixeira A.	106, 142, 145
Tejido M.L.	681, 717, 744
Tendero A.	812
Terraza A.	414
Tomás A.	435, 483, 531
Tor M.	193, 495, 585
Toro M.A.	573
Torres A.	175, 217, 220, 223, 312
Ugarte C.	564
Ugarte E.	339, 510, 564
Urdaneta A.	264, 267
Uriarte J.	399, 402
Urrutia B.	477
Valares J.A.	342, 345
Valdelvira J.J.	184, 187, 363, 366
Valderrábano J.	399, 402
Valdés C.	630
Valencia D.G.	211, 642
Valentini A.	432
Valera M.	519, 555
Valiente O.	603, 615, 624
Varela A.	16
Varona L.	426, 435, 453, 462, 483, 570
Vedres D.D.	720
Vega A. de	603, 624, 693
Veiga-López A.	279, 282, 285
Velasco S.	118, 121
Ventura M.	597
Ventura-Salgado M.	369
Vera G.	759
Vera M.R.	809
Vergara H.	127
Vicente F.	615, 690

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Vicente J.S.	261	Villarroel M.	82
Vicente J.S.	270, 294, 297, 300, 324, 336	Viniegra E.	276
Vidal O.	483, 552	Vitezica Z.	456
Vieira C.	34, 37,178	Vitto R.	52, 824
Vignon X.	282	Williams J.	432
Villadangos B.	797	Yagüe G.	462, 561
Villagrá A.	217, 220, 223, 300	Yamaki M.	166
Villalba D	193, 585	Yang W.Z.	720
		Zaragoza P.	450, 474, 534

Genética

RESULTADOS PRELIMINARES DE UN ESTUDIO DE QTL EN EL CROMOSOMA 6 BOVINO PARA CARACTERES DE PRODUCCIÓN LECHERA EN UNA POBLACIÓN FRISONA ASTURIANA

Isabel Álvarez[1], Juan José Arranz[2], Iván Fernández[1], Luis José Royo[1] y Félix Goyache[1*]

[1]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); [2]Departamento de Producción Animal I. Facultad de Veterinaria, Universidad de León *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

En el ganado vacuno lechero se han identificado diferentes regiones genómicas con influencia sobre los fenotipos relacionados con caracteres productivos (QTL). El mayor número de asociaciones significativas entre marcadores moleculares y caracteres de producción de leche se han detectado en el cromosoma 6 (ÁLVAREZ et al., 2001), tanto en la raza frisona como en otras poblaciones de carácter lechero. Es posible que en este cromosoma exista más de una región con influencia sobre los caracteres productivos lecheros, ya que se han observado fuertes evidencias en la región centromérica (GEORGES et al., 1995; SPELMAN et al., 1996; ZHANG et al., 1998) y en una zona cercana al *cluster* de las caseínas (KHÜN et al., 1999; VELMALA et al., 1999; WIENER et al., 2000). Este trabajo plantea comprobar si los QTLs con influencia sobre caracteres de producción de leche detectados en el cromosoma 6, segregan en la población de ganado Frisón ubicada en Asturias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado un pedigrí de medio hermanas de padre, de ganado Frisón Español, controlado por la cooperativa Asturiana de Control Lechero (ASCOL) en colaboración con el SERIDA (MÉNDEZ, 2002). El pedigrí lo integran familias de hijas de 5 sementales frisones, con 164-189 hijas por semental. El pedigrí se ha genotipado con 10 marcadores microsatélites localizados en el cromosoma 6, amplificados en 3 reacciones diferentes (ÁLVAREZ et al., 2001): multiplex FAM (BM4311, BM 415, BM4528); multiplex TET (BM143, BM1329, ILSTS93, CSN3) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). En la multiplex TET se incluyó un cuarto marcador que se localiza dentro del cluster de las caseínas, el CSN3. La amplificación por PCR se realizó en un volumen final de 10 µl y 50 ng de ADN extraído a partir de semen y sangre. La separación electroforética se efectuó en geles de poliacrilamida 4,25% (19:1) utilizando un secuenciador automático ABI Prism 377. El análisis de los geles y la identificación alélica se realizó con los programas GeneScan y Genotyper de Applied Biosystem®. Como valores fenotípicos se han empleado los méritos genéticos de los animales para cantidad de leche, cantidad y porcentaje de grasa y, cantidad y porcentaje de proteína obtenidos mediante las evaluaciones genéticas oficiales de CONAFE. Sobre la información aportada por los 10 microsatélites considerados, se elabora un mapa de ligamiento adaptado a la población estudiada utilizando el programa CRIMAP (LANDER y GREEN, 1987), que aplica la función de Kosambi para calcular, a partir de las frecuencias de recombinación, la distancia en cM existente entre los marcadores. Al mismo tiempo, se reconstruyeron los haplotipos más probables de los padres,

correspondientes a las 5 familias en estudio. Para ello, el programa CRIMAP utiliza una función de máxima verosimilitud asumiendo, como más probables, aquellas fases en las que el número de recombinaciones es más pequeño. Los análisis estadísticos se realizan por posiciones fijas "**s**" (1 cM) del mapa de ligamiento obtenido y se llevan a cabo empleando el Método de regresión para marcadores múltiples, basado en un análisis de mínimos cuadrados (Knott et al., 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para los marcadores BM4528 y ILSTS097, reflejaban la existencia un número mucho más elevado de recombinantes que el que se esperaría por su posición en el mapa de ligamiento, por lo que asumimos que existía algún factor que influía en la correcta identificación genotípica, fundamentalmente artefactos durante la reacción de PCR, y fueron eliminados del análisis. El mapa de ligamiento obtenido incluye 8 marcadores que cubren 155 cM (Haldane), desde el ILSTS093 al BM4311, y muestra una elevada correspondencia con los mapas bovinos obtenidos por otros autores (Kappes et al. 1997; Barendse et al., 1997), tanto en el orden de los ocho marcadores, como en las distancias estimadas entre ellos. El contenido informativo del mapa obtenido se puede observar en la Figura 1. En la región comprendida entre los 15 y 72 cM. y flanqueada por los marcadores ILST093 y BM1329, encontramos una zona donde el contenido informativo es bajo (menor del 50%), debido a la ausencia de marcadores. Sin embargo, en la zona delimitada por los marcadores BM143 y BM4311 encontramos niveles de información por encima del 60%.

En la Figura 2 queda reflejado el resultado (Log10 de los valores P) de los análisis de asociación entre las regiones genómicas cromosoma 6 en la población de ganado Frisón analizada y los valores fenotípicos de los caracteres de producción de leche. Se puede observar que en la región comprendida entre los 125 y 153 cM, delimitada por los marcadores BM415 y CSN3, el carácter porcentaje de proteína obtiene los resultados más destacables presentando una significación cercana al 1%. Cuando se observa el comportamiento dentro de las diferentes familias, se observan que existe una clara evidencia a favor de la segregación en esta región en las familias 2 y 5. En el resto de las variables, los niveles de significación que se alcanzan no hace suponer la presencia de ningún QTL segregando (Figura 2). Sin embargo, en la región centromérica, aunque no se observa una significación estadística, los resultados obtenidos en una de las familias, nos podrían hacer pensar en que aumentando el número de familias analizadas quizás se podría observar la existencia de un QTL con influencia sobre el carácter porcentaje de grasa como han puesto de manifiesto alguno de los autores antes referenciados.

Nuestros resultados son concordantes con los obtenidos en otras poblaciones de la misma raza en lo que se refiere a la región cercana del clúster de las caseínas, mientras que no se han observado evidencias estadísticas de segregación del QTL localizado en la región centromérica del cromosoma 6 en la población analizada. En el caso de la región verificada, un análisis con mayor densidad de marcadores y que contemplase el análisis conjunto con otras poblaciones de la misma raza, segregantes en esta región, podría detectar un fragmento IBD portador del QTL responsable del efecto (RIQUETT et al., 1999).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁLVAREZ, L., et al.. (2001). ITEA, Vol. Extra, nº 21.
BARENDESE, W. et al., (1997). Mammalian Genome, 8: 21-28
GEORGES, M., et al., (1995). Genetics, 139: 907-920.
KAPPES, S.M. et al., (1997). Genome Research, 7: 235-249.
KHÜN, C.H., et al., (1999). Animal Genetics, 30: 333-340
KNOTT S.A., et al. (1996). Theor. Appl. Genet, 93: 71-80.
LANDER E, GREEN P (1987). Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 2363-2367.
MÉNDEZ, C. 2002. Frisona Española, 131: 100-101.
RIQUET, J., et al.. (1999). Proc. Natl. Acad. Sci. USA , 96: 9252-9257
SPELMAN, R, et al., (1996). Genetics, 144: 1799-1808.
VELMALA, R.J., et al., (1999). Animal Genetics, 30: 136-143
WIENER, P., et al. (2000) Animal Genetics, 31: 389-395.
ZHANG, Q., et al., (1998). Genetics, 149: 1959-1973.

Figura 1: Contenido de información de los marcadores analizados en el cromosoma 6 bovino. La posición de los marcadores se indica en el eje de abscisas.

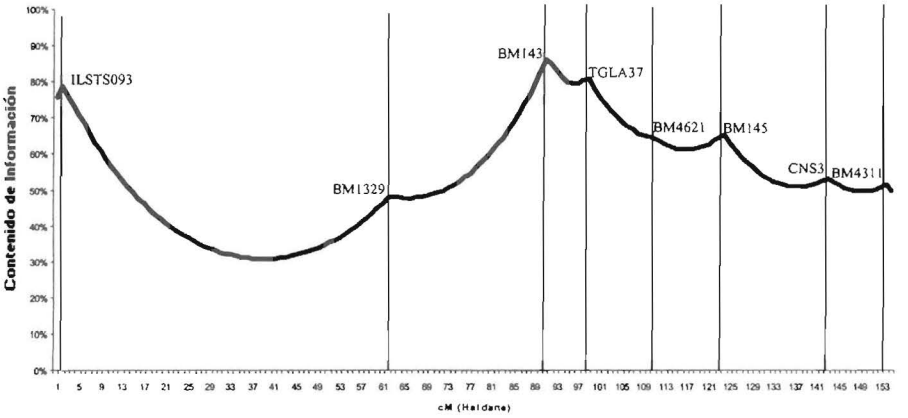
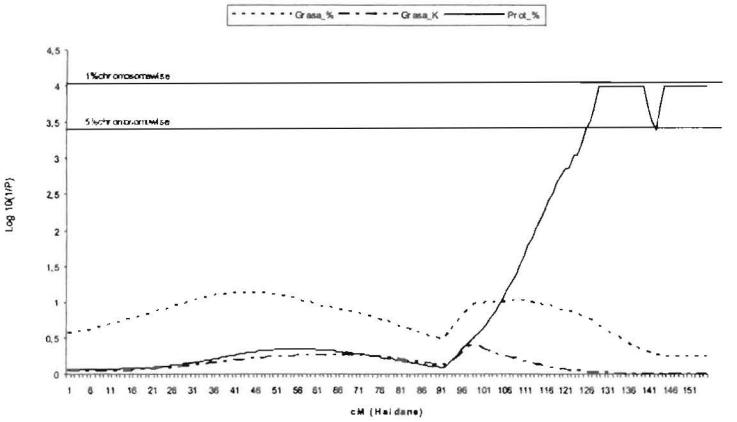


Figura 2: Test estadísticos de los análisis entre familias para producción de grasa (Grasa_K), porcentaje de proteína (Prot_%) y porcentaje de grasa (Grasa_%)



ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS Y LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA DEL GEN ACIL-COA: DIACILGLICEROL ACILTRANSFERASA 1 (DGAT1) EN PORCINO

Anna Mercadé, Luis Varona*, Armand Sánchez y Josep M. Folch.
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autónoma de Barcelona.
*Àrea de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. 25198 Lleida.

INTRODUCCIÓN

La Acil-CoA:diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) es una enzima microsomal que juega un papel importante en el metabolismo de los glicerolípidos, ya que participa en la fase final de la síntesis de triglicéridos usando como substrato diacilglicerol y acilCoA (Cases et al 1998). Al participar en la síntesis de triglicéridos puede intervenir en la absorción de grasas a nivel intestinal, en su almacenamiento en adipocitos, en el metabolismo energético muscular, en la formación de lipoproteinas o en regulación de la concentración plasmática de triglicéridos (Cases et al 1998). La deficiencia de DGAT en ratones produce resistencia a la obesidad pero sin alterar la síntesis de triglicéridos (Smith et al, 2000).

El gen DGAT1 está localizado en el cromosoma humano 8qter (Goureau et al, 1996), siendo esta región homóloga a la región del cromosoma 4 porcino donde se ha detectado un QTL que afecta al metabolismo de ácidos grasos. (Pérez-Enciso et al 2000). La posición de este QTL coincide con la descrita anteriormente por otros autores (Andersson et al, 1994; Wang et al,1998; Walling et al, 1998; Marklund et al, 1999). Un trabajo anterior de nuestro grupo en el que se analizó la composición de ácidos grasos en la F_2 de un cruzamiento entre Ibérico y Landrace, reveló la existencia de un QTL con efectos sobre el porcentaje de ácido linoleico y oleico en esta posición cromosómica. El genotipo Ibérico para el QTL está asociado a un menor porcentaje de linoleico y a un mayor porcentaje de oleico respecto al genotipo Landrace. (Pérez-Enciso,et al 2000).

El objetivo del presente estudio era describir polimorfismos del gen DGAT1 en diferentes razas porcinas y establecer su localización cromosómica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Amplificación del gen DGAT1 por RT-PCR: El ARN total se aisló de muestras de hígado pertenecientes a animales de las razas Ibérico, Landrace, Pietrain, Large White y Meisham usando Trizol (Life Technologies). La transcripción reversa se realizó con 1μg de ARN, 0.5 μM de *primer* (R7 o R16) y 15 U de *ThermoScript™ RT* en un volumen total de 20 μl ((Life Technologies). Para la reacción de PCR se usaron dos pares de *primers* el F1-R6 y el F5-R16 (Tabla 1). Las condiciones fueron 1.5 mM $MgCl_2$, 200 μM dNTPs, 300 nM de cada *primer*, 2.6 U *Expand High Fidelity PCR* (Roche Molecular Biochemicals) en un volumen final de 50 μl. El perfil térmico utilizado consistía en una desnaturalización previa a 95°C durante 3 min. Seguido de 95°C 30 s, 60°C 1 min y 72°C 2.5 min durante 10 ciclos. 95°C 30 s, 60°C 1 min y 72°C 2.5 min durante 25 ciclos (aumentando 20 s la extensión en cada ciclo). Finalmente una extensión a 72 °C durante 10 min. El diseño de los *primers* se realizó a partir de la secuencia del ARNm porcino (número de acceso Genbank AY093657).

Tabla 1. Lista de los *primers* usados para la RT-PCR y secuenciación.

Primer	5' → 3'
DGAT-F1	GGCAGGGTGCAGGCAGAGGC
DGAT-F5	CCACCATCCTCTGCTTCCCAG
DGAT-F10	GTCCCCACCATCCAGAACTCC
DGAT-R6	GCTCTCGGCACCACAGGTTG
DGAT-R7	AGGTTGTCGGGGTAGCTCACGC
DGAT-R11	CGATGATGCGTGAGTAGTCCATG
DGAT-R16	GCCGTGGACAAGCACTTTATTG

Secuenciación del producto amplificado: Los fragmentos amplificados fueron purificados con *QIAquick PCR Purification Kit* (QIAGEN) y posteriormente secuenciados mediante el *BigDye™ Terminator v3.0 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems) usando los *primers* F1, F5, F10, R6, R11 y R16. Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems). La comparación de las secuencias se realizó mediante el *software SeqScape™ v1.1* (Applied Biosystems)

Localización cromosómica del gen: El mapeo del gen DGAT1 se realizó a partir del panel de células somáticas híbridas irradiadas *INRA-Minnesota Porcine Radiation Hybrid* (ImpRH) (Milan et al 2000). Para poder diferenciar el DGAT1 porcino del de hámster se usaron los primer DGAT-F10 y R11 que únicamente amplifican en cerdo. La PCR contenía 1.5 mM de $MgCl_2$, 0.5 µM de *primers* y 25 ng de ADN en un volumen final de 25 µl. El perfil térmico empleado consistía en una desnaturalización de 95 °C 3 min. 95 °C 1 min, 64 °C 1 min, 72 °C 2.5 min durante 35 ciclos y finalmente 72 °C 7 min. El fragmento amplificado tenía un tamaño de 137 pb y fue visualizado en un gel de agarosa al 2.5%. Los resultados fueron analizados por *IMpRH mapping tool* (http://imprh.toulouse.inra.fr) (Milan et al 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por RT-PCR se obtuvieron dos fragmentos solapados de 660 pb y de 1200 pb utilizando los pares de *primers* el F1-R6 y F5-R16 respectivamente.

Los fragmentos obtenidos fueron secuenciados con los *primers* F1 y R6 para el primero y con los *primers* F5, F10, R11 y R16 para el segundo. Se obtuvo una secuencia final de 1650 pb, que contiene toda la región codificante y 8 pb y 200 pb de las regiones 5' y 3' no codificantes del ARNm respectivamente (*Genbank* AY093657).

La secuenciación del ARNm del gen DGAT1 en Ibérico, Landrace, Large White, Pietrain y Meisham permitió identificar varios polimorfismos en estas razas.
En Pietrain se detectó un polimorfismo en la región 3' no codificantes (posición 1676 de la numeración correspondiente a la secuencia *Genbank* AY093657) que determina cambio aminoacídico prolina/leucina. También se encontraron dos polimorfismos silenciosos en la región codificante (posición 1230 y 933 de la numeración correspondiente a la secuencia *Genbank* AY093657). Estos dos últimos polimorfismos coinciden con los descritos por Nonneman y Rohrer (2002).

En Meisham se encontró en la posición 1676 el polimorfismo que determina un cambio aminoacídico prolina/leucina y otros tres polimorfismos silenciosos en las posiciones 933, 978 y 1230.
En Landrace se detectó en la posición 1230 un polimorfismo silencioso.

Tabla 2. Polimorfismos encontrados en el ARNm del DGAT1 de las diferentes razas.

Localización	Posición*	Secuencia flanqueante
Exón 8	933	Meisham: tacccSgacaa Pietrain: tacccSgacaa
Exón 9	978	Meisham: gccccRactct
Exón 13	1230	Meisham: ttccaYtcctg Pietrain: ttccaYtcctg Landrace: ttccaYcctg
Exón 17	1676	Meisham: cgctc**Y**gggct Pietrain: cgctc**Y**gggct

*Posición respecto ARNm porcino (*Genbank* AY093657)

La utilización del panel de células somáticas híbridas irradiadas *INRA-Minnesota Porcine Radiation Hybrid* (ImpRH) permitió localizar el gen DGAT1 a 47 centiRay (cR) del marcador microsatélite SW2404 con un LOD = 9, por lo tanto, se sitúa casi al extremo del brazo p del cromosoma 4. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Nonneman y Rohrer (2002) por análisis de ligamiento, siendo el gen DGAT1 el gen mapeado más próximo al telómero.

La localización obtenida para el gen DGAT1 porcino no es la esperada por el análisis de los mapas comparativos entre el genoma humano y el porcino, y se sitúa fuera del intervalo de confianza del QTL encontrado en Ibérico.

BIBLIOGRAFÍA

-Cases,S., Smith,S.J., Zheng,Y., Myers,H.M., Lear,S.R., Sande,E., Novak,S., Collins,C., Welch,C.B., Lusis,A.J., Erickson,S.K., 1998, Proceedings of National Academy of Sciences of the USA, 95 13018-23
-Goureau, A., Yerle,M., Schmitz, A., Riquet,J., Milan,D., Pinton,P., Frelat, y G.,Gellin, J., 1996, Genomics, 36: 252-62.
-Milan,D., Hawken,R., Cabau,C., Leroux,S., Genet,C., Lahbib,Y., Tosser,G., Robic, A., Hatey,F., Alexander,L., Beattie,C., Schook,L., Yerle,M. y Gellin,J., 2000, Bioinformatics, 16: 558-59.
-Nonneman,D.y Rohrer, G.A., 2002, Animal Genetics 33: 468-85.
-Pérez-Enciso,M., Clop,A., Noguera,J.L., Óvilo,C., Coll,A., Folch, J.M., Babot,D., Estany,J., Oliver, M.A., Díaz,I. Y Sánchez,A., 2000, Journal of Animal Science, 78: 2525-31.
-Smith,S.J., Cases,S., Jensen,D.R., Chen,H.C., Sande,E., Tow,B., Sanan,D.A., Raber,J., Eckel,R.H.,y Farese Jr,R.V., 2000, Nature genetics, 25:87-90.

AGRADECIMIENTOS: Proyecto financiado por CICYT (AGF99-0284-C02-02) y beca predoctoral FI.

POLIMORFISMO DEL GEN DEL RECEPTOR DE ESTRÓGENOS ß(*ESR2*) EN CERDOS IBÉRICOS

Gloria Muñoz, Cristina Óvilo, Carmen Castellanos, Carmen Rodríguez
Dpto. Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. de La Coruña Km. 7.5, 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

Los estrógenos presentan importantes funciones en el endometrio y en el ovario, relacionadas con el desarrollo sexual y los procesos reproductivos. Estas funciones están íntimamente relacionadas con la gestación y están mediadas por dos subtipos de receptores nucleares ESRα y ESRβ, presentando ambos múltiples isoformas. Estos receptores son factores de transcripción activados por ligando, compuestos por varios dominios importantes para la unión de la hormona, unión al ADN y activación de la transcripción.

Debido a su potencial papel embriotrófico, el gen *ESR*α se ha considerado tradicionalmente candidato para caracteres reproductivos. Polimorfismos en este gen se han asociado al tamaño de camada en cerdos (Rothschild et al, 1996; Short et al, 1997), aunque el grado de desequilibrio de ligamiento varía entre poblaciones (Gibson et al, 2002). El segundo receptor de estrógenos (*ESR*β o *ESR2*), descubierto más recientemente, presenta una alta afinidad para unir estrógenos (Tremblay et al, 1997). Por otra parte estudios recientes sugieren que el receptor β está relacionado con funciones estrogénicas implicadas en la maduración y desarrollo de folículos ováricos, así como en la regulación del crecimiento y desarrollo embrionario en el momento de la implantación (Rosenfeld et al, 1999; Kowalski et al, 2002)

El objetivo de este trabajo ha sido la identificación de polimorfismos en el gen *ESR2*, mediante la secuenciación del ADNc, así como el estudio del efecto de las variantes genéticas detectadas sobre el tamaño de camada en dos poblaciones de cerdo ibérico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Secuenciación de ADNc

Las muestras utlizadas para la síntesis y secuenciación de ADNc corresponden a tejido ovárico obtenido de cerdas de raza Ibérica. Los tejidos fueron recogidos en nitrógeno líquido y conservados a -80ºC. El ARN total se purificó a partir de 100 mg de muestra utilizando el reactivo Tri Reagent (Sigma), y se utilizó directamente como molde para la transcripción inversa, mediante el enzima Superscript II (Invitrogen) y hexámeros aleatorios, siguiendo las instrucciones del fabricante. El producto de la retrotranscripción se utilizó para la amplificación por PCR de cuatro fragmentos solapados del ADNc (figura 1), utilizando cebadores diseñados a partir de la secuencia publicada del mRNA completo del gen *ESR2* porcino (Genbank nº acceso AF164957). Las secuencias de los primers utilizados y los tamaños de los fragmentos amplificados se detallan en la tabla 1.

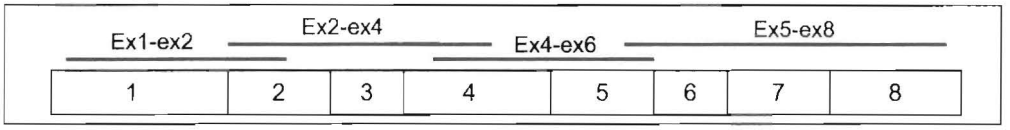
Las reacciones de PCR se realizaron en volúmenes de 25 µl, conteniendo buffer estándar 1X, 200µM dNTPs, 2mM $MgCl_2$, 0,5µM oligos, 0,75U Tth (Biotools) y 2µl ADNc. Las condiciones de amplificación fueron de 94º durante 5min, seguido de 40 ciclos de 94º (30s), Tª anillamiento específica de cada pareja de oligonucleótidos, indicada en la tabla 1, (30s), 72º (45s) y una extensión final de 72º durante 10 min. Las amplificaciones se realizaron en un termociclador PTC-100 (MJ Research, Watertown, MA). Los fragmentos obtenidos se purificaron con el kit Qiaquick PCR purification

(QIAGEN) y se secuenciaron utilizando el kit Big Dye Terminator Cycle Sequencig Kit en un secuenciador automático ABI-310 (Applied Biosystems). Se utilizó el paquete de programas DNAstar para la edición y alineamiento de las secuencias obtenidas (aplicaciones Editseq y Megalign).

Tabla 1: Secuencia de los cebadores utilizados para la secuenciación del ADNc

Fragmento	Secuencia cebadores	Tª anillamiento	Tamaño
Ex1-ex2	5'-CACCATCTAACCTTAACTCTCCTG-3'	55,5°C	413pb
	5'-GGCATCCCTCTTTGAACTTG-3'		
Ex2-ex4	5'-AGGAAGGCTAGTGGGAGCAGTTGTGC-3'	59,5°C	402pb
	5'-GAGCAGCTCCTTCACTCGGGTTGTG-3'		
Ex4-ex6	5'-GAAATTCTGAGGGGCATCTG-3'	58,6°C	409pb
	5'-CATTTCCCTTCATCCCTGTC-3'		
Ex5-ex8	5'-ATGGTGGGGCTGATGTGG-3'	59,5°C	569pb
	5'-TGAGCCTGGGGTTTCTGG-3'		

Figura 1: Representación de los exones del ADNc del gen *ESR2* y ubicación de los cuatro fragmentos amplificados para su secuenciación.



Secuenciación del intrón 4 del gen ESR2

Se detectó un SNP a cinco bases del inicio del exón 5. Con el fin de diseñar un protocolo PCR-RFLP para su genotipado, se diseñó una pareja de cebadores para amplificar y secuenciar el intrón 4. La secuencia de los primers utilizados fue: Forward: 5'-CAAGCTGGCCGACAAGGAACTGGT-3'; y Reverse: 5'-AAGATGAGCTTGCCGGGGTGGTC-3'. La reacción de amplificación se llevó a cabo en las mismas condiciones descritas anteriormente, pero con una Tª de anillamiento de 60,4°C y utilizando 60ng de ADN genómico como molde. El producto de amplificación, de aproximadamente 3 Kb, se purificó a partir de gel de agarosa utilizando el GFX PCR DNA and Gel Band Purification kit (Amersham) y se secuenció como se describe en el apartado anterior.

Genotipado PCR-RFLP y estudio preliminar de asociación

La secuencia obtenida de la secuenciación del intrón 4 con el primer reverse se utilizó, junto con la secuencia del exón 5, en el diseño de cebadores para la amplificación en ADN genómico de un fragmento del gen que comprendiera la posición 949, correspondiente al SNP detectado. Los cebadores diseñados amplifican un fragmento de 218pb y presentan la siguiente secuencia: Forward: 5'-AAAATACTGATACCCACCCCACAT-3', y Reverse: 5'-CGCCACATCAGCCCCACCAT-3'. La reacción de amplificación se llevó a cabo en las mismas condiciones descritas anteriormente, pero con una Tª de anillamiento de 61°C y utilizando 60ng de ADN genómico como molde. El producto amplificado se digirió a 37°C, con el enzima de restricción *Hsp92II* en un volumen de 20µl, utilizando 4U de enzima. El producto de digestión se analizó mediante electroforesis en geles de agarosa al 3%.

Este protocolo de genotipado se aplicó a 176 muestras de ADN de cerdos ibéricos de las estirpes *Guadyerbas* (45) y *Torbiscal* (131), con registro de tamaño de camada (nº de lechones nacidos totales). Se realizó un análisis preliminar de asociación utilizando un modelo animal de repetibilidad, con 1271 camadas registradas, en el que se consideraron como efectos fijos la línea genética (2 niveles: *Guadyerbas* y *Torbiscal*), el ordinal de parto (4 niveles) y el genotipo del individuo para el SNP del gen *ESR2*. Se estimó el efecto aditivo del gen como la diferencia entre homocigotos y el dominante como la diferencia del heterocigoto respecto a la media de los homocigotos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha obtenido la secuencia de bases de un total de 1561pb correspondientes al ADNc del gen *ESR2*. Esta secuencia corresponde al fragmento comprendido entre las posiciones 17 y 1577, localizadas respectivamente en los exones 1 y 8, cubriendo prácticamente la totalidad de dicho ADNc. Las secuencias obtenidas son idénticas a la publicada, e idénticas entre sí, excepto la base localizada en la posición 949, que constituye un SNP. Este SNP es una transición A/G contenida en el exón 5. La secuencia publicada corresponde al alelo A. Los dos individuos *Guadyerbas* secuenciados presentaron los genotipos GG y AG.

El SNP detectado produce un cambio aminoacídico en la proteína codificada del tipo metionina/valina y se localiza en la región del ADNc responsable de la codificación del dominio de unión a la hormona del receptor, fundamental para su función como factor de transcripción. Este polimorfismo es el primero observado en este gen en porcino, cuyo ADNc ha sido caracterizado muy recientemente (Kowalski et al, 2002).

La localización de este polimorfismo a tan sólo cinco bases del inicio del exón 5 condiciona la puesta a punto de un protocolo rápido de genotipado basado en PCR a partir de muestras de ADN genómico. Por ello se realizó la secuenciación de un fragmento genómico que incluye el intrón 4. La amplificación en ADN genómico con cebadores localizados en los exones 4 y 5 produjo un producto único de aproximadamente 3Kb, que se secuenció por ambos extremos. Las secuencias obtenidas confirmaron que se trataba del intrón 4. Así, se ha podido optimizar un protocolo rápido de genotipado mediante PCR-RFLP, con un primer forward localizado en el intrón 4 y un reverse en el exón 5. La digestión con el enzima *Hsp92II* produce fragmentos de 202 y 16 pb para el alelo G; y 142, 60 y 16 pb para el alelo A.

La frecuencia del alelo A en la población *Torbiscal* fue de 0,36 y en *Guadyerbas* fue de 0,10, estando ausente en esta población el genotipo AA. Los resultados del estudio de asociación muestran un efecto aditivo de: GG-AA=-0,38 (±0,47) y un efecto dominante de: GA-1/2[GG+AA]=-0,30 (±0,28). La significación de los efectos observados puede estar condicionada por el reducido número de registros disponibles, especialmente para el genotipo AA, siendo aconsejable ampliar estos estudios a un mayor número de animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gibson et al (2002) *Animal Genetics* 33, 448-450.
Kowalski et al (2002) *Biology ofRreproduction* 66, 760-769.
Rosenfeld et al (1999) *Biology of Reproduction* 60, 691-697.
Rothschild et al (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 201-205.
Short et al (1997) *Journal of Animal Science* 75, 3138-3142.
Tremblay et al (1997) *Molecular Endocrinology* 11 (3), 353-365.

BÚSQUEDA DE SNPS EN GENES CANDIDATOS RELACIONADOS CON LA CALIDAD DE CARNE EN LA ESPECIE BOVINA

Checa M.L.[1], Miranda M.E.[1], Amarger V.[2], Crisa A.[3], Delourme D.[2], Leveziel H.[2], Marchitelli C.[3], Razzaq N.[4], Valentini A.[3], Williams J.[4], Dunner S.[1]

[1] Laboratorio de Genética. Facultad de Veterinaria de Madrid. [2] INRA-Centre de Clermont-Fd/ Theix (URH). Theix, 63122 Saint-Genès-Champanelle, Francia. [3] Instituto di Zootecnia. Universita della Tuscia. 01100 Viterbo, Italia. [4] Roslin Institute, Roslin, Midlothian, Scotland.EH25 9PS, Reino Unido.

INTRODUCCIÓN

Las estrategias de asociación entre genes candidatos y fenotipos de interés (Taylor *et al.*, 1998; Page *et al.*, 2002) despiertan un creciente interés. La primera etapa de esta estrategia consiste en la elección de los genes candidatos, bien por su papel en rutas metabólicas implicadas en procesos básicos de la expresión fenotípica, bien por su ubicación (candidatos posicionales) en QTLs previamente descritos. En una segunda etapa se trata de identificar variabilidad en los genes candidatos seleccionados, de manera que pueda aplicarse alguna prueba estadística de asociación entre el polimorfismo detectado en los genes y los diferentes niveles de expresión fenotípica (Cardon y Bell, 2001).

La identificación de mutaciones de tipo SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) es una labor intensa para la que se pueden usar varios métodos. Todos se basan en la comparación de secuencias específicas de locus generadas a partir de cromosomas distintos para determinar las diferencias puntuales (Marth *et al.*,1999). La información de la que se parte procede generalmente de secuencias localizadas en bases de datos públicas correspondientes a los genes elegidos para la especie en estudio o en su defecto para la especie humana o murina, pero también de secuencias generadas en proyectos de ESTs (Expressed Sequence Tags o marcadores codificantes) (Schultz *et al.*, 2000).

La secuenciación directa del fragmento producido por PCR perteneciente al gen candidato es la forma más sencilla de identificación del SNP. Sin embargo, la información con la que se diseñan las regiones de estudio es a menudo escasa, los fragmentos analizados son por lo tanto pequeños y se necesitan diseñar y sintetizar muchos cebadores distintos, contribuyendo todo ello a limitar este abordaje.

Existen estrategias de búsqueda basadas en el llamado RRS o *Reduced Representation Shotgun* utilizada para la identificación de SNPs a gran escala en la especie humana (Altshuler *et al.*, 2000). Esta estrategia consiste en mezclar ADNs de diferentes individuos genéticamente distantes y en construir genotecas de plásmidos después de su digestión con enzimas de restricción. La secuenciación siguiendo la estrategia de *shotgun,* genera pequeñas moléculas solapantes al azar que una vez alineadas permiten obtener una representación reducida de estos genomas para determinar las diferencias y por tanto los SNPs existentes.

Sin embargo, esta estrategia ignora que los genes elegidos son candidatos por estar implicados en rutas metabólicas de interés y por lo tanto es válida solamente en los casos en los que el objetivo sea el de describir SNPs en el genoma de una especie.

El objetivo de esta presentación es describir una estrategia rápida de búsqueda de polimorfismos del tipo SNP en genes candidatos elegidos por su posible influencia sobre diversas características de calidad de carne en ganado bovino. Estos trabajos se desarrollan en el marco del proyecto europeo GeMQual (QLRT-CT2000-0147, www.gemqual.org).

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico. Se utilizó ADN extraído de muestras de sangre de terneros pertenecientes a las razas Asturiana de Valles, Asturiana de Montaña, Pirenaica, Avileña, Limousine, Charolaise, Piedmontese, Marchigiana, Danish Red Cattle, Holstein, Aberdeen-Angus, Hereford, Jersey, Highland y South-Devon. Un panel de referencia constituido por dos individuos de cada raza sirvió para la localización de los SNPs.

Amplificación de fragmentos. A partir de la información disponible en la especie humana o murina y su comparación con la especie bovina (ARNm, ESTs), se diseñan cebadores localizados preferentemente en exones no contiguos para incrementar la probabilidad de detectar polimorfismo. En la mayoría de los casos, al ser los intrones muy largos, los fragmentos amplificados serán de 1 a 5 kb de longitud. Esta operación se realiza utilizando la polimerasa *Long Range* Expand (Roche).

Digestión mediante enzimas de restricción. Los fragmentos obtenidos se someten a una digestión conjunta con *Hae*III, *ScrF*I y *Sau96*I (incubando con 1U de cada enzima durante 1h a 37°C).

Análisis SSCP. El producto digerido es desnaturalizado antes de su carga en geles de acrilamida no desnaturalizantes y sometido a electroforesis (700 V durante 6-7h). Estas condiciones permiten que al estar las moléculas en hebra simple, la migración dependa directamente de su secuencia, obteniéndose un patrón de bandas más o menos complejo, en dónde las diferencias nucleotídicas entre individuos se reconocerán por la modificación del patrón de migración.

Identificación de polimorfismos. Los individuos que muestran un polimorfismo (Figura 1) son secuenciados para identificar la/s mutacion/es que contienen. El tamaño de los fragmentos estudiados requiere el diseño de cebadores internos sobre exones incluidos en el fragmento o sobre secuencia nueva generada, de forma que permitan reconstruir la secuencia del fragmento original.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la imagen de 3 amplicones distintos estudiados por esta técnica RFLP-SSCP (Iwahan *et al.*, 1992) que pertenecen a un fragmento de 1,8 Kb del gen CPE (Carboxypeptidase E) y 2 fragmentos de 1,5 y 1,2 Kb del gen MYOZ (Myozenin) respectivamente. Como se ve en la imagen, este análisis permite la identificación rápida del polimorfismo existente, siendo tan sólo necesario secuenciar un individuo por cada patrón de migración diferente observado. Esta estrategia permitió la identificación de 3 polimorfismos en el caso del gen CPE y otros 3 polimorfismos distintos en el del gen MYOZ. De este manera, aunando digestión de secuencias largas con la migración por SSCP de los fragmentos resultantes, se pueden rastrear amplias regiones genómicas con tan sólo el conocimiento de parte del ADN codificante, identificando un número suficiente de SNPs que servirá para llevar a cabo la posible asociación entre determinados genes y fenotipos.

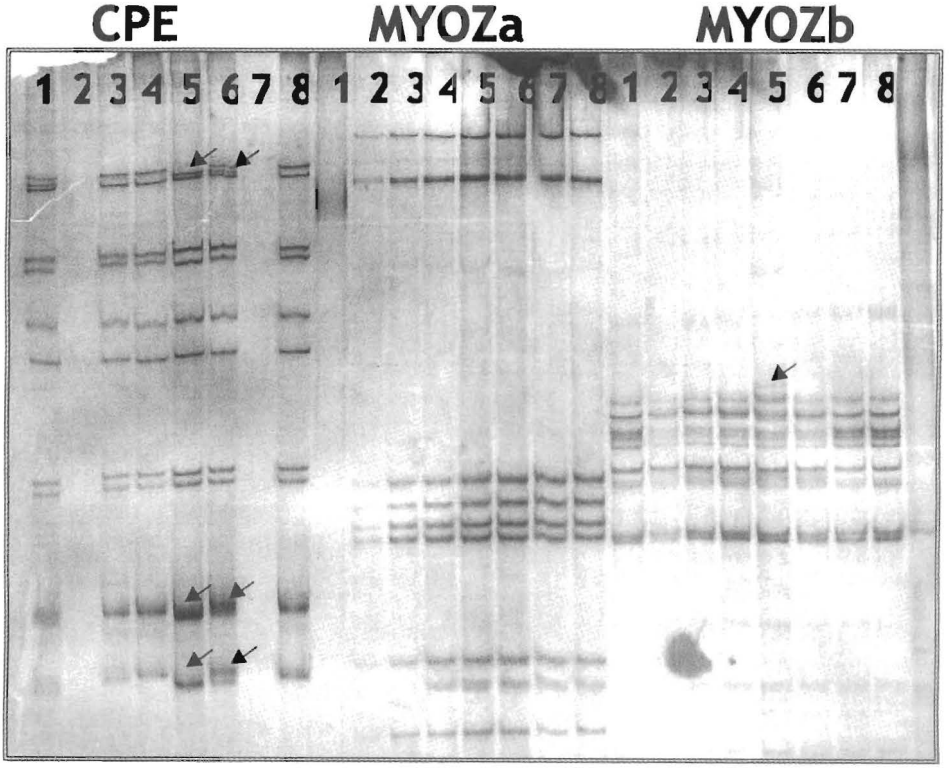


Figura 1- Muestra de un patrón de bandas SSCP generado a partir de la digestión de 3 amplicones diferentes (CPEa, MYOZa y MYOZb). Cada calle es un animal distinto (1-8). Se indican con flechas los patrones que muestran polimorfismo.

AGRADECIMIENTOS

Además del proyecto europeo mencionado hemos recibido financiación del MCyT a través del INIA, proyecto nº CAL01-009-C02-1. Nuestro agradecimiento a las asociaciones de ganaderos españolas, francesas, italianas, inglesas y danesas por proporcionar los animales incluidos en el estudio.

REFERENCIAS

Altshuler *et al.*, (2000). An SNP map of the human genome generated by reduced representation shotgun sequencing. *Nature* 407: 513-516.

Cardon y Bell., (2001). Association study designs for complex diseases. *Nature Rev. Genet.* 2: 91-99

Iwahan *et al.*, (1992) Detection of point mutations by SSCP of PCR-amplified DNA after endonuclease digestion. *BioTechniques* 12: 64-66.

Marth *et al.*, (1999). A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery. *Nature Genetics* 23: 452-456.

Page *et al.*, (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in *CAPN1* for association with meat tenderness in cattle. *J.Anim.Sc.* 80(12):3077-85

Schultz *et al.*, (2000). More than 1,000 putative new human signalling proteins revealed by EST data mining. *Nature Genetics* 25: 201-204.

Taylor *et al.*, (1998). Candidate gene analysis of GH1 for effects on growth and carcass composition of cattle. *Anim Genet.* 29(3):194-201.

DETECCIÓN DE QTL CON EFECTOS EN CARACTERES RELACIONADOS CON LA CAPACIDAD MATERNAL EN UN CRUCE F_2 ENTRE CERDO IBÉRICO Y MEISHAN

Anna Tomás[1], Luis Varona[2], Oscar Ramírez[1], Luis Gómez-Raya[2], M. Carmen Rodríguez [3], Armand Sánchez[1], José L. Noguera[2]

[1]Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. Bellaterra 08193, Spain.
[2]Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198, Spain
[3] Dpto. Mejora Genética Animal, SGIT-INIA, Madrid 28040, Spain

INTRODUCCIÓN

A lo largo de las dos últimas décadas los caracteres reproductivos han adquirido una creciente importancia en la mejora genética del ganado porcino. La mejora de los caracteres de reproducción podría ser incrementada si los genes que controlan los procesos fisiológicos subyacentes pudieran manipularse directamente y se aprovechara la gran variabilidad existente entre razas, fundamentalmente de aquellas con características reproductivas extremas. Con este fin, se ha realizado un cruce F_2 entre la línea Guadyerbas de cerdo Ibérico y una línea Meishan del INRA (Francia). El objetivo principal del proyecto es localizar zonas del genoma responsables de la expresión de caracteres relacionados con la reproducción en ganado porcino. El número de animales involucrados en el experimento es de 18 hembras Meishan y 3 machos Ibéricos, 108 hembras y 8 machos F_1 y 293 hembras F_2. Los caracteres registrados son: tasa de crecimiento, ritmo reproductivo, estado corporal durante la reproducción (5 ciclos), prolificidad y sus componentes, capacidad maternal y supervivencia de los lechones. Todos los individuos son genotipados para aproximadamente 100 microsatélites distribuidos uniformemente a lo largo del genoma. En el presente estudio se presentan resultados preliminares de detección de QTL en el cromosoma 9 para peso al nacimiento, peso al destete y asimetría de las tetinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Extracción y cuantificación de ADN
El ADN de los animales parentales, F_1 y F_2 se obtuvo mediante un protocolo de extracción con solventes orgánicos a partir de muestras de sangre o cola. La calidad y cantidad del ADN extraído se comprobó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 0,8%.

Amplificación de los microsatélites
Los microsatélites fueron seleccionados por su informatividad en los animales parentales mediante el índice de Ron (Ron *et al.*,1995). Las reacciones PCR para el genotipado de los individuos del pedigrí para los microsatélites seleccionados fueron realizadas en un termociclador automatizado ABI Prism 877 *Integrated Thermal Cycler* (Applied Biosystems). Los productos de PCR fueron sometidos a una electroforesis capilar y detección fluorescente en un equipo automatizado ABI Prism 3100 *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems) y, posteriormente, analizados mediante el programa de análisis de fragmentos *GeneScan* (Applied Biosystems).
Los genotipos de los animales del pedigrí fueron almacenados en la base de datos GEMMA v4.05 (Iannucelli *et al*, 1996).

Análisis Estadístico
Se ha realizado un barrido a lo largo del cromosoma 9 utilizando el siguiente modelo de regresión:

$$y_{ijk} = S_i + F_j + c_a a + c_d d + e_{ijk}$$

donde y_{ijk} es la observación *ijk* , S_i es el efecto fijo asociado al sexo, F_j es el efecto fijo asociado a la familia de hermanos completos, *a* es el efecto aditivo y *d* el efecto de dominancia y e_{ijk} es el efecto residual. Los coeficientes c_a y c_d se calcularon del siguiente modo:

$$c_a = pr(QQ) - pr(qq) \text{ , y } c_d \text{ † } pr(Qq)$$

donde *pr(QQ)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen Ibérico, *pr(qq)* es la probabilidad de ser homocigoto de origen Meishan y *pr(Qq)* es la probabilidad de ser heterocigoto.

Los umbrales de significación cromosómica al 5% y al 1% fueron de 5,222 y 7,716 respectivamente. Estos umbrales fueron calculados mediante técnicas de permutación de los datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra los valores aditivos y de dominancia para cada uno de los QTL detectados en el cromosoma 9, próximos al microsatélite SW911 (32,8cM). La estimación de los efectos aditivos de los QTLs indican una superioridad media de los alelos Meishan del QTL para el carácter peso al destete; mientras que no se detectan efectos aditivos en el peso al nacimiento ni en la asimetría de las tetinas. Las estimas obtenidas obtenidas sugieren efectos de dominancia de los QTL para los tres caracteres.

Tabla 1. Estimas de los efectos aditivos (a), de dominancia (d) y error estándar para los QTLs del cromosoma 9 .—

Carácter	Posición (cM)	Fmáxima	a	s.e.	d	s.e.
Peso Nacimiento	32	5,65*	-0,03	0,02	0,08	0,03
Peso Destete	32	7,99**	-0,32	0,13	0,51	0,19
Asimetría Tetinas	33	7,6*	-0,08	0,08	0,40	0,11

*: p< 0.05, **:p< 0.01

Peso al nacimiento. Se ha detectado un QTL para peso al nacimiento significativo al nivel cromosómico del 5% en la posición 32cM. Paszek *et al.* (1999) encontraron un QTL significativo a nivel nominal para peso al nacimiento en el cromosoma 9 en la región comprendida por los marcadores SW911-SW511-SW989 que explicaría un 2,6% de la varianza fenotípica en un cruce Meishan x Yorkshire.

Peso al destete. El QTL detectado para peso al destete en la posición 32cM resultó significativo al nivel cromosómico del 1%. Malek *et al.* (2001) han sugerido la existencia de un QTL para ganancia media diaria hasta el destete en la posición 37cM, por lo que podría tratarse del mismo QTL.

Asimetría de las tetinas. Se ha detectado un QTL para asimetría fluctuante de tetinas en la posición 33cM con un nivel de significación cromosómica del 5%. Son muchos los QTL descritos para número de tetinas (Bidanel *et al.,* 2000; Rohrer, 2000; Hirooka *et al.*, 2001) pero ninguno, hasta el presente estudio, sobre la asimetría de tetinas. Este carácter, además de considerarse como un indicador del estrés genético y ambiental (Leary y Allendorf, 1989), puede ser utilizado en mejora genética para seleccionar los animales potencialmente más viables y productivos, generalmente aquellos que presentan mayor simetría (Manning y Ockenden, 1994). Sin embargo existe una cierta controversia sobre la naturaleza genética de la asimetría fluctuante. Clarke et al., (1992) indican que la asimetría fluctuante es un fenómeno esencialmente no aditivo afectado por dominancia y epistasia mientras que Fernández *et al.* (2002) confirmaron la presencia de efectos genéticos aditivos (significativamente distintos de cero aunque de pequeña magnitud) sobre la asimetría del número de mamas.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CYCIT AGL2000-1229-C03

BIBLIOGRAFÍA

Bidanel J.P., *et al.* 2000. *Journées de la Recherche Porcine en France* **32:** 369-383.
Clarke G.M., *et al.*1992. *Evolution* **46:** 753-762.
Fernández A. *et al.* 2002. *XI Reunión Nacional de Mejora Genética Animal.* Pamplona
Hirooka H., *et* al. 2001. *Journal of Animal Science* **79:** 2320-2326.
Iannucelli E., *et al.* 1996. *Proceedings of the International Society of Animal Genetics Conference.* Tours, Francia.
Leary R.L. y Allendorf F.W. 1989. *Trends Ecol. Evol* **4:** 214-217.
Malek M., *et al.* 2001. *Mammalian Genome* **12:** 630-636.
Manning J.T.y Ockenden L. 1994. *Nature* **370:** 185-186
Møller A.P. y Swaddle, J.P. 1997.*Oxford University Press*, Oxford.
Paszek A.A.,*et al.* 1999. *Mammalian Genome* **10:** 117-122.
Rohrer G.A. 2000. *Journal of Animal Science* **78:** 2547-2553.
Ron M., *et al* 1995. *Animal Genetics* **26:** 439-441.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 438-440

ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN ENTRE EL GEN *PrP* Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE EN UN REBAÑO DE OVEJAS ASSAF

A. Parada, N. Marcotegui, L. Alfonso, A. Arana.

Dpto. Producción Agraria. Universidad Pública de Navarra. Campus de Arrosadía. 31006 Pamplona, Navarra.

INTRODUCCIÓN

En un trabajo previo se analizaron los polimorfismos del gen PrP, relacionados con la susceptibilidad/resistencia al scrapie, en una población Assaf (Marcotegui et al., 2003). En la población analizada no se encontraron animales VRQ/VRQ siendo el genotipo más frecuente ARQ/ARQ. Asimismo, el análisis de asociación polimorfismo – valor genético para producción de leche codón a codón no mostró relación. Esos resultados sugieren el interés de seleccionar en contra de los animales ARQ/ARQ atendiendo a su mayor susceptibilidad referida en otros trabajos (Hunter et al., 1997). No obstante, parece necesario realizar un análisis más profundo de la relación entre la producción de leche de los animales ARQ/ARQ frente al resto antes de iniciar la selección contra ARQ/ARQ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales analizados. Se han analizado un total de 75 hembras pertenecientes a un rebaño de ovejas Assaf ubicado en Navarra. Se trata de una población con 430 ovejas en lactación en la que se lleva a cabo un sistema intensivo, siendo éstas ordeñadas desde el parto. A la hora de llevar a cabo el muestreo de los animales, se establecieron tres grupos (Marcotegui et al., 2003): 1) las mejores 30 ovejas según valor genético para producción de leche, 2) las peores 30 ovejas según ese mismo criterio y 3) 30 ovejas al azar del total de la población (alguna de las cuales se incluye en los grupos anteriores). El objetivo fundamental del tercer grupo fue evitar estimaciones sesgadas de frecuencias para el gen PrP (Alfonso, 2002).

Análisis de los genotipos. El genotipado de los animales se efectuó partiendo de la amplificación de un fragmento de DNA genómico de 641 bp en el que se incluían los codones 136, 154 y 171 de acuerdo a la técnica aplicada por O'Doherty et al. (2001). Para identificar los polimorfismos en esos codones se empleó el Kit SnaPshot Multiplex y un secuenciador de electroforesis capilar ABI PRISM 310 Genetic Analyzer junto con el software Genescan (Applied Biosystems). El interés de este método radica en que el genotipado se lleva a cabo de forma rápida pero presenta el inconveniente de no poder determinar los haplotipos en animales heterocigotos.

Análisis estadístico. Se comparó la frecuencia del genotipo ARQ/ARQ entre el grupo de las mejores y las peores mediante Chi-cuadrado (χ^2). Tras este primer análisis se analizaron los datos de producción de leche mediante el siguiente modelo mixto:

$$Y_{ijklmn} = i + GENO_i + NL_j + AÑO_k + ANIMAL_l + EP_m + e_{ijklmn}$$

Y: producción de leche estandarizada a 210 días de acuerdo a ICAR con extensión de lactaciones abiertas (136 lactaciones producidas por 75 ovejas);
GENO: genotipo (ARQ/ARQ y resto);
NL: orden lactación (1ª, 2ª, 3ª y 4ª);
AÑO: año de parto (1999, 2000, 2001, 2002);
ANIMAL: efecto genético aditivo (1183 animales);

EP: efecto permanente de la oveja –ambiental y genético de tipo no aditivo- (75 ovejas).

Se consideraron: GENO, NL, AÑO como fijos y ANIMAL y EP como aleatorios con matrices de dispersión $A.\sigma^2_a$ y $I.\sigma^2_c$ respectivamente, siendo A la matriz de parentesco. Se utilizó el programa PEST considerando los componentes de varianza previamente estimados en la población (h^2=0.17; r=0.35). Inicialmente se consideraron los factores número de corderos nacidos, concepción durante la lactación y estación del parto, pero se desconsideraron al no resultar significativos para este conjunto de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indican que las ovejas ARQ/ARQ no son mejores productoras de leche que las del resto de genotipos, en cualquier caso peores. La frecuencia del genotipo ARQ/ARQ en las 30 ovejas tomadas al azar fue del 50%. Los cambios en las frecuencias genotípicas entre los grupos de ovejas selectivamente genotipadas, conducen a afirmar que no existe relación (Tabla 1). Sin embargo, el umbral de significación junto a lo conservador del test, invitan a sospechar una posible relación. Ésta se confirma en los resultados del análisis de la producción de leche mediante un modelo mixto (Tabla 2), estimándose una menor producción de leche (casi 60 litros) para los genotipos ARQ/ARQ.

Tabla 1 – Frecuencias del genotipo ARQ/ARQ en los grupos de mejores y peores ovejas según valor genético de producción de leche y significación de la diferencia.

Grupo	Frecuencia ARQ/ARQ	Umbral sig. Chi-cuad.
Mejores	0.33	0.069
Peores	0.57	

Tabla 2 – Media mínimo cuadrática de la producción de leche (error estándar) y diferencia estimada entre los animales ARQ/ARQ y el resto de genotipos.

	ARQ/ARQ	Resto	Dif. Estimada (ARQ/ARQ – Resto)	Sig.
Prod. leche (l)	570.95 (e.s.20.05)	630.92 (e.s.15.60)	-56.84 (e.s.25.77)	0.03
NºAnim. (NºLact.)	42 (64)	33 (72)		

Por otra parte, se ha observado que los individuos ARQ/ARQ no presentan diferencias en términos de prolificidad ni en cuanto a duración del periodo de lactación frente al resto de ovejas. Como consecuencia, la selección en contra del genotipo ARQ/ARQ puede llevarse a cabo en esta población sin perjuicio de su valor genético ni productivo.

Los resultados se deben de interpretar teniendo en cuenta el origen y la estructura de la población. No se puede afirmar que el gen PrP sea responsable de las diferencias; ni siquiera que esté en desequilibrio de ligamiento con algún gen responsable. A esta conclusión llegaron Barillet et al. (2002) en su estudio de dos poblaciones francesas de ovejas productoras de leche.

La hipótesis más razonable para explicar los resultados obtenidos en este trabajo sería pensar que existe confusión entre el valor genético para producción de

leche de ciertos individuos, su participación reproductiva en la población y su genotipo para el gen PrP. Esta hipótesis, aunque de escaso interés científico, es importante desde el punto de vista técnico-económico, pues en un proceso de selección contra ARQ/ARQ, la asociación encontrada afectaría a los resultados de la población a corto-medio plazo.

Como ejemplo el gráfico 1, puede explicar parcialmente la relación genotipo – valor genético concretamente los datos de machos 2 y 7. En el caso del macho 2, se tiene que el número de lactaciones de hijas ARQ/ARQ es mayor que el de hijas con otros genotipos dando una producción de leche menor que en el caso del macho 7, en el que hay menor número de lactaciones correspondientes a las hijas ARQ/ARQ (637 litros frente a 775 litros).

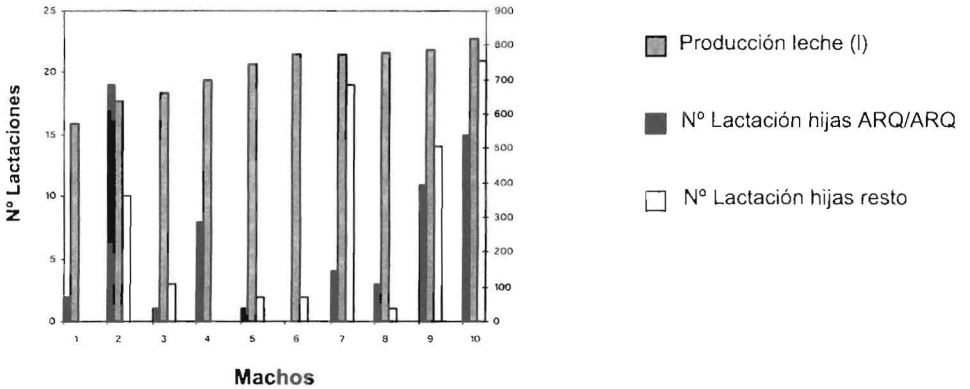


Gráfico 1. Producción media de leche (valores ajustados por efectos fijos) de las ovejas genotipadas y número de lactaciones según genotipo en función de su padre.

Como conclusión, aunque de estos resultados no se puede inferir la existencia de causalidad genética ARQ/ARQ - producción de leche, parece deducirse la existencia de asociación. Lo mismo podría ocurrir en otras poblaciones o rebaños por lo que desde un punto de vista técnico-económico, es conveniente analizar esa asociación antes de iniciar un proceso de selección en contra de los genotipos asociados a susceptibilidad para evitar pérdidas genéticas y productivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- **Alfonso, L. (2002).** 7th WCGALP, Montpellier, France. Communication nº 22-31.
- **Barillet, F., Andreoletti, O., Palhière, I., Aguerre, X., Arranz, J. M., Minery, S., Soulas, C., Belloc, J. P., Briois, M., Frégeat, G., Teinturier, P., Amigues, Y., Astruc, J. M., Boscher, M. Y. and Schelcher, F. (2002).** 7th WCGALP, Montpellier, France.Communication nº 13-20.
- **Groeneveld, E., Kovac, M., Wang, G. T. (1990).** PEST, User's Guide.
- **Hunter, N. (1997).** The Genetics of Sheep, CAB International, Cambridge, UK.
- **Marcotegui, N., Parada, A., Alfonso, L., Arana, A. (2003).** A presentar en EAAP, Roma, Italia.
- **O'Doherty, E. , Aherne, M., Ennis, S., Weawers, E., Roche, J. F., Sweeney, T. (2001).** Research in Veterinary Science 70, 51-56.

DISCRIMINACIÓN DE HETEROCIGOTOS EN EL GEN PRP OVINO

Parra, D.; Cañón J.; Dunner, S.
Laboratorio de Genética. Facultad de Veterinaria. 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

La tembladera ovina o *scrapie* es una enfermedad descrita en 1732 que afecta a la especie ovina en la mayoría de los países, con la excepción de Nueva Zelanda y Australia. Esta enfermedad se caracteriza, al igual que las demás Encefalopatías Espongiformes Transmisibles, por la acumulación de una proteína (PrP o prión) que adquiere una conformación anormal (PrPsc) en diferentes órganos del animal afectado (Prusiner et al., 1990).

Existe un determinismo genético para la resistencia o la susceptibilidad a la enfermedad en la especie ovina asociado a la combinación de determinados aminoácidos en las posiciones 136, 154 y 171 de la proteína PrP. En estas posiciones, los individuos VRQ y en menor medida los ARH están asociados a una susceptibilidad a la tembladera mientras que los alelos ARR y en menor medida los AHQ muestran una resistencia clara a padecer la enfermedad (Westaway et al., 1994).

En varios países europeos se está llevando a cabo un genotipado sistemático de los tres codones mediante diferentes técnicas: PCR-RFLP (Hunter et al., 1994; Yuzbasuyan-Gurkan et al., 1999), PCR alelo-específica (Okayama et al., 1989) o Primer Extension (Syvänen, 1999). La determinación de la presencia de Histidina (H) y Glutamina (Q) en el tercer triplete requiere la detección de cambios en la segunda y tercera posición del codón 171 lo cual, a su vez, implica el análisis de cuatro posiciones diferentes para identificar el genotipo adecuadamente.

Como la mayoría de los países afectados, con la excepción de Islandia, han propuesto reducir la incidencia de la tembladera modificando la frecuencia de los alelos asociados a la resistencia/susceptibilidad, sería importante que no existiera confusión entre alelos. En algunos países no se realiza la diferenciación entre ARQ y ARH, lo que dada la ausencia de un completo conocimiento de las asociaciones estadísticas entre alelos y resistencia/susceptibilidad podría ser fuente de sesgos de magnitud desconocida.

Una de las técnicas más utilizadas para el análisis del gen PrP es la mini-secuenciación (o 'primer extension') de las variantes nucleotídicas en los tres codones, basándose en la elongación, por medio de la polimerasa, de un oligonucleótido complementario a la región 5' inmediatamente adyacente a la posición nucleotídica de interés. Cada extensión implica la unión de un único ddNTP (dideoxi-nucleósido-trifosfato) marcado con un fluoróforo que es complementario al nucleótido en la posición variable o SNP, deteniéndose la reacción de polimerización iniciada (Syvänen, 1999, Makridakis et al., 2001). El codón 171 se analiza con sendos cebadores diseñados en la región inmediatamente adyacente al codon, discriminando en la posición segunda (mediante el abordaje desde la cadena 5'→ 3') las variantes nucleotídicas *G* (dando lugar a un codon que genera una Arginina) o *A* (una Histidina o una Glutamina) y cualquiera de los cuatro nucleótidos en la posición tercera del codón desde la cadena complementaria. Sin embargo, aparecen casos de individuos 'doble heterocigoto' para estas dos posiciones (es decir *AG/AGCT*) por lo que el método descrito no permite determinar su fase y por lo tanto su genotipo, que podría ser tanto R/Q como R/H.

Proponemos una técnica que discriminaría de manera segura todos los genotipos para el gen PrP en los tres codones considerados, evitando posibles sesgos en los análisis de asociación entre genotipos y resistencia/susceptibilidad al scrapie.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ADN se extrajo de semen de moruecos siguiendo un protocolo de lisis alcalina consistente en cuatro lavados con H_2O destilada, una incubación de 15' con NaOH 0,25M, la adición de HCl 0,25 M y añadiendo posteriormente el mismo volumen de Tris-HCl 0,1M pH=8.
La amplificación de 639 pb de ADN genómico se realizó en un volumen de 25 µL con la siguiente composición: 5 µl de la lisis alcalina, 0,5 unidades de Taq polimerasa (Biotools), 10 pmol de cada cebador: SCRAPOV-for: (GTGAAAAGCCACATAGGCA GTTGG) y SCRAPOV-rev: (GCTCCACCACTCGCTCCATTATCTTG), 1,5 mM de MgCl2, Buffer 1x y 200 µM de dNTPs. Después de purificar el producto amplificado por precipitación con etanol (con el objetivo de eliminar los restos de oligonucleótidos y dNTPs no incorporados) se llevó a cabo la minisecuenciación para la que se emplearon oligonucleótidos específicos diseñados a partir de la secuencia de PrP ovina AJ223072 (Goldmann et al., 1990), con distintas longitudes para evitar el solapamiento entre productos finales (Tabla I). Esta reacción en múltiplex se llevó a cabo en un volumen final de 10 µL, con la siguiente composición: 5 µL de kit SNaPshot™ (Applied Biosystem), 1 µL de PCR purificada (0.4 pmol total) y 1 µL de cada primer a 5 µM. Previo a su carga en el secuenciador automático ABI PRISM 3100 se purificó mediante precipitación con etanol. El análisis de los fragmentos se llevó a cabo mediante el software Genescan 3.7.1®. El tamaño relativo de los fragmentos se determinó por comparación con el standard interno de tamaño GeneScan 120-LIZ (Applied Biosystems).

Tabla I. Oligonucleótidos diseñados para el análisis del gen PrP ovino.

Cebador	Secuencia[1]	Resultado[2]
Prp136	GTGGCTACATGCTGGGAAGTG	negro (*C*:**A**) / rojo (*T*:**V**)
Prp154	TATACATTTTGGCAATGACTATGAGGACCGTTACTATC	azul (*G*:**R**)/ verde (*A*:**H**)
Prp171.2	TATATCCAAGTGTACTACAGACCAGTGGATC	azul (*G*:**R**)/ verde (*A*:**H** o **Q**)
Prp171.3	GCTACAGACCAGTGGATCA	azul (*G*:**H**) / rojo (*T*:**Q**)

[1] Todas las secuencias tienen una orientación 5'-3'
[2] El resultado indica en primer término el color de la señal, y entre paréntesis, el nucleótido detectado (en cursiva) y correspondencia amino-acídica (en negrita).

RESULTADOS

La primera amplificación produce un fragmento de 639 pb, que comprende los cuatro sitios polimórficos. La tabla I incluye los cuatro cebadores utilizados en la segunda reacción que permiten determinar el nucleótido incorporado y por tanto el amino-ácido resultante. En el caso del codón 171, ambos cebadores (que interrogan el segundo y tercer nucleótido de ese codón respectivamente) tienen la misma orientación pero el cebador prp171.3 aparte de interrogar el tercer nucleótido final, al ser alelo-específico solamente mostrará el nucleótido siguiente en la secuencia que

presente una adenina en la segunda posición de tal manera que la fase de un heterocigoto podrá interpretarse fácilmente como se puede observar en la Figura 1.

El procedimiento empleado en este trabajo que incluye la extracción de ADN por lisis alcalina y las purificaciones sencillas con etanol (y que difiere de la digestión con exonucleasa y fosfatasa alcalina generalmente utilizada en estos protocolos) permite automatizar y por tanto simplificar y abaratar el escrutinio de posiciones variables o SNPs mediante mini-secuenciación del gen PrP ovino. La interpretación de los nucleótidos en la segunda y tercera posición del codón 171, aunando interrogación y especificidad alélica, permite determinar sin ninguna duda cuál es el genotipo exacto para el gen PrP del individuo analizado.

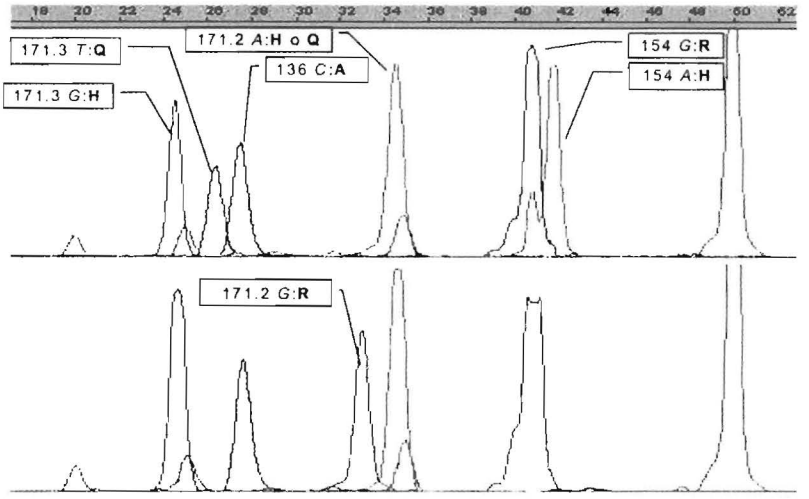


Figura 1. Electroferograma que muestra dos individuos heterocigotos AHQ/ARH (arriba) y ARR/ARH (abajo) donde se pueden observar los picos diagnósticos en las posiciones 136, 154 y 171. En el individuo AHQ/ARH, aparecen tres picos para este último codón, presentando en la posición 171.2 el correspondiente al nucleótido A, lo que unido a que en la posición 171.3 aparecen dos picos correspondientes a los nucleótidos G y T, permite deducir que es heterocigoto Q/H. El individuo ARR/ARH es heterocigoto para la posición 171.2, y debido a la especificidad alélica reseñada, el pico 171.3 es el que acompaña a la 171.2 A, determinando la presencia del alelo H.

AGRADECIMIENTOS

Laboratorio Central del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

REFERENCIAS

Goldmann, *et al.* (1990). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **87**: 2476-2480
Hunter *et al.* (1994). *Archives of Virology* **137**:171-177
Makridakis y Reichardt (2001). *Biotechniques* **31**:1374-1380
Okayama *et al.*, 1989. *Journal of Laboratory Clinical Medicine* **114**: 105-113
Prusiner *et al.*, 1990. *Cell* **63**: 673-686
Syvänen A.C. (1999). *Human Mutation* **13**:1-10
Westaway *et al.*, (1996). *Lancet* **347**: 1114
Yuzbasuyan-Gurkan et al., (1999). *American Journal of Veterinary Research* **60**: 884-887

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL GEN DE LA OXITOCINA OVINA EN LA RAZA CHURRA*

J.A. Morán, J.J. Arranz y F. San Primitivo.
Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León

INTRODUCCIÓN

La identificación de los genes que influyen sobre los caracteres cuantitativos de interés en producción animal (QTLs), suele ser abordada utilizando los mapas de ligamiento. Estos mapas se construyen mediante la información que suministran marcadores genéticos anónimos, principalmente secuencias microsatélite, que cubren, desde un cromosoma determinado al genoma completo. La segregación de los marcadores se estudia en pedigríes complejos, compuestos por diferentes estructuras familiares. Este proceso ha demostrado su eficacia en diversas especies (Georges et al., 1995, Spelman et al., 1996; Coppietters et al., 1998; Walling et al., 2000). Existe una segunda estrategia para intentar identificar estos QTLs; es la llamada hipótesis de los *genes candidatos*. Se denomina gen candidato a todo aquel que, debido a los conocimientos bioquímicos o fisiológicos sobre su acción, puede estar implicado en la expresión o la fisiología de un carácter determinado. Estos loci pueden ser genes estructurales o reguladores, e incluso pueden afectar a la cadena bioquímica de síntesis o degradación de sustratos relacionados con la expresión del carácter (Lynch y Walsh, 1998).

La hipótesis planteada propone que una proporción significativa de la varianza genética, de un carácter determinado, se debe a la segregación de diferentes alelos (funcionales o reguladores) de los genes candidatos para este carácter (Bryne y McMullen, 1996). La estrategia "Gen candidato" ha resultado muy eficaz para la detección de genes que presentan un pequeño efecto (pequeña contribución a la varianza total del carácter) y en aquellas poblaciones con estructuras familiares que poseen un escaso poder estadístico en estudios de ligamiento (Ebstein et al., 1996; Gelernter y Crowe, 1997).

Uno de los genes candidatos elegidos en relación con la producción láctea, siguiendo los principios arriba mencionados, es la oxitocina. Esta hormona hipofisaria tiene un papel fundamental en el mecanismo de eyección láctea, ya que contribuye de una manera primordial al mecanismo de contracción de las células mioepiteliales (Sapyno et al., 1993). En el presente trabajo pretendemos mostrar la variabilidad encontrada en el exón II del gen de la oxitocina en el ganado ovino de raza Churra.

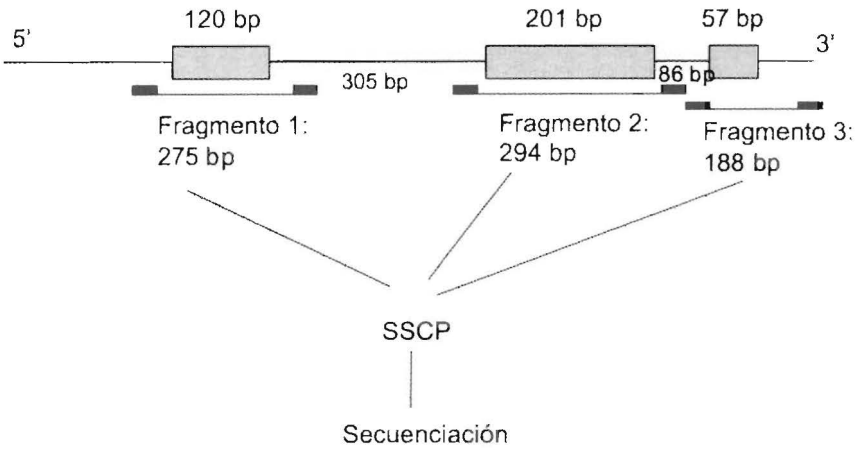
MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de la secuencia del gen de la oxitocina ovina (Nº acceso GeneBank X55131) se han diseñado cebadores para la amplificación de fragmentos que engloben los tres exones del gen, como se muestran en la Figura 1.

Con objeto de aumentar las posibilidades de encontrar variabilidad, se ha desarrollado un panel formado por 32 animales no emparentados de la raza Churra y 8 animales de cada una de las siguientes poblaciones: Assaf, Awassi, Castellana, Lacaune, Latxa, Manchega, Merina y Milchschaf. En total 96 muestras diferentes.

* Trabajo financiado por el proyecto AGF99/0191 del MCYT

Figura 1: Esquema del procedimiento de búsqueda de variabilidad en el gen de la oxitocina



Metodología

Se diseñaron cebadores para amplificar la secuencia que contiene los tres exones del gen de la oxitocina, siguiendo como criterios: a) que las temperaturas de hibridación de la pareja de cebadores estuviesen lo más cercanas posibles y b) que el producto amplificado resultante tuviese una longitud entre 150 y 300 bp.

La PCR se llevó a cabo en termocicladores GeneAmp PCR System 9700 de Applied Biosystems, empleando los cebadores indicados en la tabla 1 y siguiendo el siguiente perfil de PCR: (94 °C - 5') 30 ciclos (94 °C - 30"; 60 °C - 40" + 72 °C - 40").

Tabla 1. Cebadores utilizados en la amplificación del exón 2 del gen de la oxitocina

Cebadores de PCR	
OXI-E2 UP: CTCCCGCCAGTGTCTCCCCT	OXI-E2 DN: TGCACAGAGAGACGCCGAG

La electroforesis se realizó en un sistema vertical, utilizando geles de 20 x 16 cm compuestos por polímeros de MDE 0,5x. La separación de los fragmentos de PCR se desarrolló a 15 W, durante 4 horas y a 6 °C.

Secuenciación

Para la secuenciación se utilizó un secuenciador "ABI Prism377" de Applied Biosystems, utilizando el kit de secuenciación BigDye terminador v3.1 Cycle Sequencing kit. Los resultados se compararon mediante la bases de datos de Internet del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) y se alinearon mediante el programa ClustalX.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los SSCPs produjo 9 patrones electroforéticos distintos, para el fragmento correspondiente al exón II del gen de la oxitocina. Cada patrón se corresponde con una combinación diferente de bandas de cadena simple. La sensibilidad del análisis se maximizó, de forma que cualquier ligera diferencia observada en el patrón de bandas se consideró como un nuevo patrón, que posteriormente sería verificado en el proceso de secuenciación.

Para cada uno de estos 9 modelos electroforéticos distintos, se secuenciaron tres animales utilizando los dos cebadores empleados en la PCR, con el fin de confirmar la diferente composición en nucleótidos de cada uno de los patrones de migración.

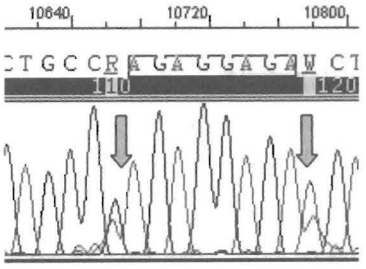
Con el fin de obtener la secuencia definitiva de cada patrón, las secuencias de los 27 animales fueron alineadas mediante el programa clutalX.
Una vez alineados, se verificaron 6 secuencias diferentes para el exón II de la oxitocina. De ellas, 4 afectaban a la región codificante. Al traducir el código proteico para cada una de las 4 variantes, pudimos comprobar que solo una de ellas producía cambios en la secuencia aminoacídica de la proteína. En concreto, se producían dos cambios, uno en el aminoácido 46 del péptido señal Arginina, **R**, por Glutamina, **Q**, y otro en la posición 49 Asparagina, **N**, por Isoleucina, **I**. El resultado de la secuenciación de este mutante se muestra en la figura 2 y la traducción de los dos tipos proteicos en la Tabla 2.

Tabla 2: Secuencia aminoacídica del péptido señal normal y mutado

Oxitocina y Neurotripsina X55131	CLPCGPGGKGRCFGPSICCGDELGCFVGTAEALRCREENYLPSPCQSGQK
Translation of OXI-E2 (direct 1)	CLPCGPGGKGRCFGPSICCGDELGCFVGTAEALRCREENYLPSPCQSGQK
Translation of OXI-E2 mutado	CLPCGPGGKGRCFGPSICCGDELGCFVGTAEALRCQEEIYLPSPCQSGQK

Los animales portadores de esta mutación eran heterocigotos, es decir poseían los dos tipos proteicos, el normal y el mutado. Aún no se ha verificado la posible influencia de este nuevo tipo proteico sobre caracteres productivos, ya que la frecuencia encontrada en la población de raza Churra ha sido muy baja, e insuficiente para realizar un estudio de asociación.

Figura 2: secuencia de los dos SNPs que producen cambios de la secuencia aminoacídica en la oxitocina



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bryne, P.F. McMullen, M.D. (1996). Defining genes for agricultural traits: QTL analysis and the candidate gene approach. Probe, 7: 24-27.

Coppieters, W., Riquet, J., Arranz, J.J., Cambisano, N., Grisart, B., Marq, F., Moreau, L., Nezer, N., Simon, P., Vanmanshoven, P., Wagenaar, D., Georges, M. (1998). A QTLwith major effect on milk yield and composition maps to bovine chromosome 14. Mammalian Genome, 9: 540-544

Ebstein, R.P., Novick, O. Umansky, R. (1996). Dopamine D4 (D4DR) exonIII polymorphism associated with the human personality trait of novelty seeking. Nature Genetics, 12: 78-80.

Gelernter, J., Crowe, R.R. (1997). Candidate genes and psychiatric genetics: tomorrow never knows. Psychiatric Annals, 27: 262-267.

Georges, M. Nielsen, D. Mackinnon, M. Mishra A. et al. (1995) Mapping quantitative trait loci controlling milk production by exploiting progeny testing. Genetics, 139: 907-920.

Lynch, M. Walsh, B. (1998). Genetics and analysis of quantitative traits. Sinauer associated Inc., Sunderland MA, USA.

Sapino, A., Macri, L., Tonda, L. Bussolati, G. (1993). Oxytocin enhances myoepithelial cell differentiation and proliferation in the mouse mammary gland. Endocrinol. 133, 838-842

Spelman, R., Coppieters, W., Karim, L., van Arendonk, J.A.M., Bovenhuis, H. (1996). Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the dutch Holstein-Friesian population. Genetics, 144: 1799-1808.

Walling, G.A., Visscher, P.M., Andersson, L., Rothschild, M.F. et al. (2000). Combined analyses of data from quantitative trait loci mapping studies. Chromosome 4 effects on porcine growth and fatness. Genetics, 155: 1369-1378.

POLIMORFISMO DEL GEN *VASCULAR-CELL ADHESION MOLECULE* (*VCAM1*) PORCINO

Oscar Ramirez[1], Marta Blanch[1], Marcel Amills[1], José Luis Noguera[2], Armand Sánchez[1]

[1] Unitat de Ciència Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193, Spain.
[2] Area de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198, Spain

INTRODUCCIÓN

El gen *vascular cell-adhesion molecule 1* (*VCAM1*) codifica una glicoproteína transmembranal (VCAM1) que participa en la arteriogénesis y se expresa a nivel endotelial (Cybulsky *et al.* 2001). Asimismo, la molécula VCAM1 facilita la adhesión de los linfocitos y los monocitos a la pared vascular (Osborn et al. 1989; Rice & Bevilacqua 1989) y juega un papel esencial en la formación de la placenta y el cordón umbilical (Gurtner *et al.* 1995). La disrupción de gen *VCAM1* murino por recombinación homóloga ha demostrado que en los individuos *knockout* no se produce la fusión del corion con el alantoides entre los días 8-9 de gestación, dando lugar a una elevada tasa de mortalidad embrionaria (Gurtner *et al.* 1995, Kwee *et al.* 1995). Asimismo, la deleción del gen *VCAM1* provoca hemorragias pericárdicas y abortos debido a su importante papel en la formación de los vasos sanguíneos coronarios y epicárdicos (Yang *et al.* 1995).
En humano, el gen *VCAM1* es de copia única, posee 9 exones y tiene un tamaño de 25 Kb (Cybulsky *et al.*1991). Se han descrito 2 isoformas de la proteína debido al *splicing* alternativo del exón 5 (Cybulsky et al.1991). En porcino, el gen *VCAM1* ha sido mapeado en el cromosoma 4 y se ha descrito la existencia de polimorfismo genético (Helm *et al.* 1994, Tuggle *et al.* 1997). Igualmente, se ha secuenciado el cDNA completo que posee un tamaño de 2494 pb y posee una identidad nucleotídica del 84% con su ortólogo humano (Tsang *et al.* 1994). En el presente trabajo se ha llevado a cabo la caracterización de variantes alélicas del gen *VCAM1* en un cruce Ibérico x Meishan con la finalidad de realizar un estudio de asociación entre dichas variantes y caracteres relacionados con la supervivencia embrionaria y otros parámetros reproductivos.

MATERIAL Y METODOS

Amplificación del cDNA VCAM1 porcino
Se realizaron extracciones de RNA a partir de muestras de útero y ovario correspondientes a 10 individuos de las razas Pietrain, Large White, Landrace, Vietnamita, Meishan, Ibérica e Ibérico x Meishan. El RNA se purificó mediante congelación de las muestras en nitrógeno líquido y pulverización y homogenización con un politrón. El tejido homogenizado se resuspendió en *Trizol reagent* (Gibco BRL, Life Technologies) y el RNA se extrajo según las indicaciones del fabricante. La síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el kit *ThermoScript RT-PCR System kit* (Invitrogen S.A.). Los oligonucleótidos empleados en la reacción de amplificación fueron VCAM-F 5'- CCG AGG AAT ATC GTC GTG AT-3', VCAM-Rw; 5'-ACT CCC TCG CAC ACG TAA AT -3'. Ambos oligonucleótidos fueron diseñados mediante el *software* Primer 3 empleando como molde la secuencia *VCAM1* porcina (GenBank número de acceso L43124). Las condiciones de la reacción de PCR fueron 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTPs, 0.5 µM de cada *primer*, 2-3 µl de reacción de transcripción

reversa y 0.75 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 25 µl. El perfil térmico fue de 94 °C-1 min, 61 °C-2 min, 72 °C-3 min durante 35 ciclos.

Secuenciación del producto amplificado e identificación de polimorfismos
Los productos amplificados fueron purificados con el Concert™ Rapid PCR Purification System (GIBCO BRL) y se realizó secuenciación directa de los mismos mediante el ABI PRISM BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (version 3.1). Las reacciones de secuenciación se analizaron en un aparato de electroforesis capilar ABI PRISM 310 Genetic analyzer (Applied Biosystems). Las secuencias obtenidas fueron alineadas mediante el programa Multalin (Corpet 1988) con la finalidad de identificar posiciones polimórficas.

Genotipado de polimorfismos
Para llevar a cabo el genotipado de los dos polimorfismos encontrados en las posiciones 305 y 647, se puso a punto un método de diagnóstico basado en la aproximación de *primer-extension analysis* en formato múltiplex. Se amplificó un fragmento que incluía los exones 3 y 4 mediante los oligonucleótidos VCAMG-F 5'-CAA AAT GAT TGC GCA GAT TG-3' y VCAMGRw 5'-TAC TGA GGG CTG ACC ATC AA-3'. La composición de la reacción de PCR fue 1.5mM $MgCl_2$, 100 µM dNTP, 0.5 µM de cada oligonucleótido y 0.75 U de Taq DNA polimerasa en un volumen final de 25 µl. El perfil térmico consistió en 1 ciclo a 94 °C-1.5 min seguido de 35 ciclos a 94 °C-1.5 min, 65 °C-2 min y 72 °C-2.5 min y un ciclo final de extensión a 72 °C-20 min. El producto amplificado fue purificado mediante el kit *ExoSAP-IT* (Amersham Biosciences Europe GmbH) y las dos mutaciones se genotiparon mediante el kit *SnaPshot™ ddNTP Primer Extension* (Applied Biosystems). La secuencia de los oligonucleótidos usados en la reacción de extensión fueron: VCAM1 5'- ATA TAT AGC ACA GTC TCC TGC GGG AA - 3' (mutación A/T_{305}) y VCAM2 5' – ATG AAG AGT TTG GAA TTT ACC TTT ACT CCT AC-3' (mutación C/T_{647}).

RESULTADOS Y DISCUSION

Se amplificó un fragmento de 840 pb del cDNA *VCAM1* porcino que fue secuenciado en diez individuos de distintas razas porcinas. Mediante el alineamiento de dichas secuencias se encontraron dos nuevos polimorfismos en las posiciones 305 (A/T) y 647 (C/T) (considerando la posición 1 como el primer nucleótido del codón de inicio). Dichas posiciones corresponden a los exones 3 y 4 respectivamente. El polimorfismo A/T_{305} comporta una sustitución aminoacídica Asn/Lys en la posición 102 y por tanto implica la sustitución de un aminoácido neutro por otro cargado positivamente. El polimorfismo C/T no esta asociado a ningún cambio aminoacídico. Las frecuencias alélicas de ambos polimorfismos se pueden observar en la Tabla 1.

Tabla 1. Frecuencias alélicas de los polimorfismos del gen *VCAM1* en distintas razas porcinas.

RAZAS	A305T		C647T		N
	A	T	C	T	
Meishan	0,00	1,00	0,09	0,91	17
Ibérico	0,00	1,00	1,00	0,00	7
Large White	0,40	0,60	1,00	0,00	10
Pietrain	0,73	0,27	0,93	0,07	13
Landrace	0,04	0,96	0,92	0,08	12

Dado que la molécula VCAM1 se expresa en las primeras fases del desarrollo placentario y umbilical, siendo necesaria para la formación de conexiones vasculares entre el embrión y las membranas extraembrionarias, resultaría de gran interés

realizar un estudio de asociación entre el polimorfismo del gen *VCAM1* porcino y distintos caracteres reproductivos (supervivencia embrionaria, capacidad maternal y prolificidad). Con dicha finalidad, se ha puesto a punto un método de genotipado que permitirá analizar 424 individuos F_0, F_1 y F_2 generados a partir de un cruce Ibérico x Meishan. Estas dos razas parentales, se hayan muy diferenciadas genéticamente y presentan diferencias fenotípicas muy notables en cuanto a los caracteres considerados, lo cual permitirá una elevada potencia en la detección de asociaciones. Hasta el momento se han genotipado los individuos parentales para ambos polimorfismos y sólo se ha detectado la presencia del polimorfismo C/T_{647}. Igualmente, se ha comprobado que los alelos C y T están prácticamente fijados en los parentales ibéricos y Meishan, respectivamente.

BIBLIOGRAFIA

1. Corpet F. 1988. Nucleic Acids Res. 16: 10881-90.
2. Cybulsky MI, Fries JW, Williams AJ, Sultan P, Eddy R, Byers M, Shows T, Gimbrone MA and Collins T. 1991. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 7859-7863.
3. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M, Davis V, Gutierrez-Ramos JC, Connelly PW and Milstone DS. 2001. J. Clin. Invest. 107: 1255-1262
4. Gurtner GC, Davis V, Li H, McCoy MJ, Sharpe A, Cybulsky MI. 1995. Genes Dev. 9: 1-14.
5. Helm JM, Schmitz CB, Tuggle CK and Rothschild MF.1994. J Anim Sci 72(10): 2764.
6. Kwee L, Baldwin HS, Shen HM, Stewart CL, Buck CA, Labor MA. 1995. Development 121: 489-503.
7. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vassallo C, Luhowskyj S, Chi-Rosso G and Lobb R. 1989. Cell 59: 1203-1211.
8. Rice GE and Bevilacqua MP. 1989. Science 246: 1303-246.
9. Tsang YT, Haskard DO and Robinson MK. 1994. Biochem Biophys Res Commun 15;201(2): 805-12.
10. Tuggle CK, Yu TP, Sun HS, Wang L and Rothschild MF. 1997. J Anim Sci 75(8): 2286.
11. Yang JT, Rayburn H, Hynes RO. 1995. Development 121: 549-60.

Gracias a CIA "El Dehesón del Encinar", COPAGA, INRA y Nova Genètica por ceder las muestras de sangre y tejidos utilizadas en este estudio. El presente trabajo fue financiado con el proyecto CYCIT AGL2000-1229-C03.

CARACTERIZACIÓN DE GENES CLAVE EN EL METABOLISMO DE LA GRASA EN RUMIANTES: Aislamiento, localización y búsqueda de variación

R. Roy [a], L. Ordovas [a], M. Gautier [b], H. Hayes [b], P. Zaragoza [a], A. Eggen [b], & C. Rodellar [a]

[a]Laboratorio de Genética Bioquímica y Grupos Sanguíneos, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, España.
[b]Laboratoire de Génétique Biochimique et Cytogénétique, INRA, Jouy-en-Josas, France

INTRODUCCIÓN

Caracteres como el marmoreado, la cantidad de grasa de la leche o la carne, composicion ., además de estar influenciados por factores externos como la dieta, tienen un componente genético, y suelen estar determinadas por un número elevado de genes. Se han detectado distintas regiones cromosómicas en bovino con influencia sobre este tipo de caracteres cuantitativos o QTLs. Hasta ahora ha resultado complicado asociar genes a estas variaciones observadas debido al escaso número de genes localizados en los mapas de especies domésticas. Actualmente con el uso de información procedente de mapas más desarrollados, como el de la especie humana y el de ratón, las librerías de cDNA, y el uso de paneles de células híbridas irradiadas se han incorporado un mayor número de genes en los diferentes mapas (Georges and Anderson, 1996). Para la localización fina de estos caracteres cuantitativos es necesaria la incorporación de genes candidatos y marcadores polimórficos asociados a los mismos.

En este trabajo presentamos un mapa de células híbridas irradiadas de las regiones donde se localizan tres enzimas que intervienen en la síntesis de grasa y que por su función y su localización cromosómica son posibles genes candidatos con influencia en algunos QTLs descritos en la especie bovina. La FASN (Fatty Acid Synthase) que interviene en la síntesis de ácidos grasos, cataliza todas las reacciones para la conversión de acetil-CoA y malonil-CoA en ácido palmítico. Esta enzima ha sido localizada mediante FISH en el cromosoma bovino 19q22 (Roy et al., 2001) La GPAM (Glycerol Phosphate Acyltransferase) que interviene en la primera etapa de la síntesis de triglicéridos y que ha sido localizada en el cromosoma BTA26q22 (Roy et al., 2002) . La MGAM (Maltase Glucoamylase) que hidroliza los extremos no reductores de los oligosacáridos y ha sido localizada en el cromosoma bovino BTA4q34 (Roy et al., in press). Además de llevar a cabo su localización cromosómica hemos realizado la búsqueda de variación tanto en la zona codante como en la no codante, tratasndo de encontrar marcadores microsatélites y SNPs asociados a los tres genes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento de fragmentos específicos bovinos para cada uno de los genes.

Se diseñaron oligonucleótidos a partir de secuencias disponibles en otras especies. Para el gen de la FASN se utilizó la secuencia de rata (M84761), para la GPAM se utilizó una secuencia de ratón (NW_000148) y para la MGAM una secuencia de la MGAM humana (NM_004668). Los primers utilizados, las condiciones de amplificación y la talla de los fragmentos obtenidos se muestran en la Tabla 1. Estos fragmentos específicos fueron clonados y secuenciados. La búsqueda de homología se llevo a cabo con el programa BLAST del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/). Las secuencias bovinas fueron enviadas a GenBank.

GEN	Oligos 5'- 3'	Tª unión	Talla fragmento	Nº acceso a GenBank	BAC positivos
FASN	ATCTTCTTGAAGAACGTGAC CATGTATCGGAAGGCGTCCT	55ºC	180 pb	AF285607	0439G6,0663B4 0073H8,0311H9 0322G1,0878E7
GPAM	AGCACCAGCAATTCATCACC TTCTGCAGGTACTCAGACTC	53ºC	120 pb	AF469047	0522B11 0789H09
MGAM	AGGGACAGGGGCCTGAGCAG TCGTATGTGGGTCTGGTCTGG	55ºC	129pb	AY188356	0022G4

Tabla1. Oligonucleótidos y características de amplificación de cada uno de los genes.

Screening de una librería de BACs (Bacterial Artificial Chromosomes).

Los primers mostrados en la Tabla 1 fueron utilizados para la búsqueda de clones que contuvieran los genes objeto de nuestro estudio en una librería de BACs (Eggen et al., 2001).

FISH: Hibridación in situ fluorescente.

La hibridación in situ fluorescente se llevó a cabo sobre preparaciones de cromosomas bovinos (Hayes et al., 2000). Se utilizaron como sonda los BACs positivos para el gen de la FASN, de la GPAM y de la MGAM.

Análisis de un panel de células híbridas irradiadas.

Este análisis se llevo acabo usando un panel de 94 clones híbridos irradiados de hámster y bovino de 3000 Rads (Williams et al., 2002). Se utilizó el programa Carthagene para realizar el análisis two-point y multipoint de los datos obtenidos mediante PCR del panel de híbridas irradiadas y construir el mapa de la región que contiene cada uno de los tres genes. Las distancias entre los marcadores se calcularon con el programa RHMAP 3.0 (Lange et al., 1995).

Búsqueda de polimorfismos: microsatélites y SNPs (single nucleotide polymorphism)

Se buscaron marcadores microsatélites a partir de los BACs aislados para cada uno de los genes mediante digestión de los mismos con SAUIII y posterior ligación con un vector de clonación. Una vez ligados se transformaron bacterias y tras la hibridación con una sonda $(TG/TC)_{12}$ se secuenciaron los clones positivos.

Se buscaron SNPs en distintos exones de la FASN bovina (Roy et al., in preparation) mediante secuenciación directa del cDNA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Localización cromosómica de los genes de interés

En la Figura 1 se muestra la localización citogenética y el mapa de híbridas irradiadas de la región donde se han localizado cada uno de los genes. Diferentes estudios han mostrado posibles QTL en el cromosoma BTA19, BTA26 y BTA4(Taylor et al., 1998; Zhang et al., 1998; Boichard et al., 2000;). La FASN, la GPAM y la MGAM bovinas podrían ser posibles genes candidatos para estos QTLs observados por su localización y su función.

Detección de variación asociada a los genes de la FASN, GPAM y MGAM.

Los BACs positivos para cada fragmento se utilizaron para la búsqueda de microsatélites. Se obtuvieron varias secuencias microsatélites, de las cuales 5 resultaron ser polimórficas. Una de ellas estaba asociada al gen de la FASN y cuatro al gen de la GPAM.

Para la búsqueda de SNPs se partió de parte de la secuencia obtenida para la GPAM y FASN en la especie bovina (Roy et al., en preparación) y se amplificaron distintas regiones exónicas en distintos animales. Mediante secuenciación directa de los fragmentos PCR hemos detectado dos SNPs, uno en el exón 34 y otro en el exón 21 del gen de la FASN.

Estos polimorfismos, microsatélites y SNPs, van a ser estudiados en distintas razas bovinas, con diferente grado de engrasamiento, para tratar de relacionar las distintas variantes alélicas asociadas a estos genes con la cantidad de grasa.

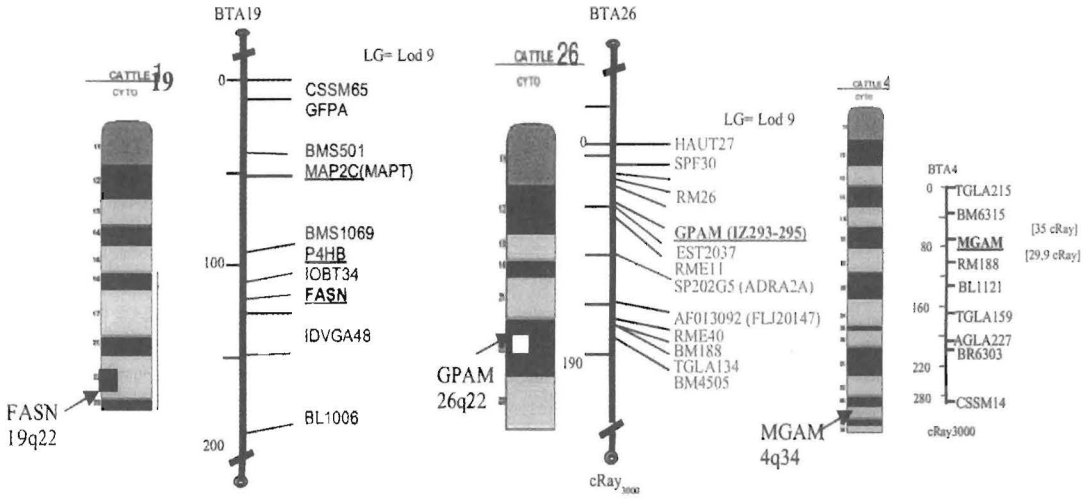


Figura 1. Mapas RH (radiation hybrid) para las regiones del cromosoma BTA19, BTA26 y BTA4 donde se localizan el gen de la FASN, la GPAM y la MGAM respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

-Eggen A, Gautier M, Billaut A, Petit E, Hayes H, Laurent P, Urban C, Pfister-Genskow M, Eilertsen K, and Bishop MD, 2001. Construction and characterization of a bovine BAC library with four genome-equivalent coverage. Genet Sel Evol 33(5): 543

-Georges M, Andersson L, 1996. Livestock genomics comes of age. Genome Res 6(10):907-921

-Hayes H, Di Meo GP, Gautier M, Laurent P, Eggen A, Ianuzzi L, 2000. Localization by FISH of 31 Texas nomenclature type I markers to both Q and R banded bovine chromosomes Cytogenet Cell genet 90:315-320

-Lange K, Boehnke M, Cox DR, Lunetta KL, 1995 Statistical methods for polyploid radiation hybrid mapping. Genome Res 5(2):136-150

-Roy R, Gautier M, Hayes H, Laurent P, Osta R, Zaragoza P, Eggen A, and Rodellar C, 2001. Assignment of the fatty acid synthase (FASN) gene to bovine chromosome 19 (19q22) by in situ hybridization and confirmation by somatic cell hybrid mapping. Cytogenet Cell Genet 93(1-2): 141-142.

-Roy R, Gautier M, Hayes H, Laurent P, Zaragoza P, Eggen A, and Rodellar, C, 2002. Assignment of the glycerol-3-phosphate aciltransferase mitochodrial (GPAM) gene to bovine chromosome 26 (26q22) by in situ hybridization and confirmation by somatic cell hybrid mapping. Cytogenet Genome Res 97:276-277

-Roy R, Gautier M, Hayes H, Laurent P, Zaragoza P, Eggen A, and Rodellar, C,. Assignment of the maltase glucoamylase (MGAM) gene to bovine chromosome 4 (4q34) by in situ hybridization and confirmation by radiation hybrid mapping. Cytogenet Genome Res, in press

-Schiex T, Chabrier P, and M, Milan D, 2002.Boosting EM for radiation hybrid and genetic mapping.Theor Appl Genet,in press

-Taylor JF, Coutinho LL, Herring KL, Gallagher DS, Brenneman RA, Burney N, Sanders JO, Turner JW, Smith SB, Miller RK, Savell JW, and Davis SK, 1998. Candidate gene analysis of GH1 for effects on growth and carcass composition of cattle. Anim Genet 29(3): 194-201.

-Williams JL, Eggen A, Ferreti L, Farr C, Gautier M, et al,. 2002. A bovine whole genome radiation hybrid panel and outline map. Mamm Genome 13:469-474

-Zhang Q, Boichard D, Hoeschele I, Ernst C, Eggen A, Murkve B, Witte LA, Grignola FE, Uimari P, Thaller G, and Bishop MD, 1998. Mapping quantitative trait loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. Genetics 149(4): 1959-1973.

SUPERVIVENCIA HASTA EL DESTETE DE LECHONES F_2 IBERICO × MEISHAN

Casellas J.[1], Noguera J.L.[2], Varona L.[2], Sánchez A.[1], Arqué M.[2] y Piedrafita J.[1]

[1]Unitat de Ciència Animal. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. UAB, 08193 Bellaterra (Barcelona).
[2]Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida.

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente el 13 % de los lechones nacidos vivos mueren antes del destete y cerca de la mitad de estas bajas se producen dentro de los primeros tres días de vida (Varley 1995). Obviamente, estas pérdidas son económicamente importantes y resulta por ello interesante identificar los factores que afectan la viabilidad de los lechones. El nacimiento representa un cambio drástico en el ambiente del lechón, que debe adaptar rápidamente su fisiología a las nuevas condiciones, así como competir con sus hermanos para acceder a la leche. Cualquier factor que interfiera en la adaptación al nuevo ambiente y/o la vitalidad para hacerse con un lugar a la hora de mamar, conllevará una reducción en las probabilidades de supervivencia del animal. Por otro lado, múltiples variables fisiológicas sufren modificaciones drásticas durante los primeros minutos de vida y su influencia sobre la supervivencia de los lechones no ha sido estudiada en profundidad. Hace décadas que se viene analizando este problema, pero el desarrollo de las técnicas de análisis de supervivencia y su incorporación en paquetes informáticos accesibles (Survival Kit de Ducrocq y Sölkner, 1998) permite un nuevo enfoque del mismo, sobre todo gracias a la implementación de los procedimientos descritos por Prentice y Gloeckler (1978) que posibilitan el análisis de datos con tiempos de fallo agrupados. La supervivencia de los lechones hasta el destete representa un claro ejemplo, dado que los tiempos de fallo para múltiples animales se concentran en el primer y segundo día y, en menor medida, también aparecen agrupaciones en otras edades hasta llegar al destete. Este trabajo pretende ahondar en el conocimiento de las causas de mortalidad de los lechones hasta el destete aplicando un análisis categórico de supervivencia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo se han registrado los partos de 108 cerdas F1, resultantes del cruzamiento de las razas Ibérica y Meishan. Se utilizaron instalaciones y condiciones de manejo estándar, y se minimizaron las intervenciones externas, administrando oxitocina vía intramuscular (20 U.I.) sólo cuando el tiempo entre nacimientos superaba los 30 minutos. Para cada lechón se registró la hora exacta de nacimiento, la presentación y el orden de nacimiento. Para determinar la Puntuación de Viabilidad (PV) se sumaron los valores de tres parámetros, simplificando el procedimiento propuesto por Randall (1971). Dichas variables fueron: inicio de la respiración, tono muscular e intentos para levantarse, puntuadas según la valoración descrita por Zaleski y Hacker (1993). Seguidamente se monitorizaron tres variables fisiológicas, la frecuencia cardiaca (FC1), la saturación de oxígeno arterial (SO1) y la temperatura rectal (TR1) mediante un pulsioxímetro Vet/Ox® 4404 Monitor (Heska Corporation, Fort Collins, Colorado, USA). Tanto la frecuencia cardiaca como la saturación de oxígeno se controlaron en la lengua. También se registró el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la medición de la saturación de oxígeno (TO1). Posteriormente, los lechones eran pesados, identificados y situados nuevamente junto a la parte posterior de la cerda. De esta manera se pudo valorar el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la llegada a las tetinas (TT), o el comienzo de la tetada (TM). Una hora después del parto se monitorizó nuevamente la frecuencia cardiaca (FC2), la saturación de oxígeno (SO2) y la temperatura rectal (TR2), y se procedió a contar el número de tetinas del lado derecho e izquierdo para calcular los valores correspondientes de asimetría direccional (AD) y asimetría fluctuante (AF), descritos por Fernández et al. (2002).

Se analizó la supervivencia hasta el destete de 899 lechones mediante un modelo de datos agrupados (Prentice y Gloeckler 1978). El tiempo de fallo se consideró censurado

para aquellos animales que llegaron al destete. La supervivencia no se analizó como una variable continua, sino que se expresó en una escala categórica, asumiendo que la baja de un determinado individuo *i* no se produce en el tiempo t_i, sino dentro del intervalo $[t_i - 1, t_i)$. Estos procedimientos están extensamente detallados en Ducrocq (1999). De acuerdo con la metodología propuesta por Ducrocq y Sölkner (1998), primero se contrastó la significación de los efectos fijos y después se añadieron los aleatorios. Los efectos fijos testados fueron: a) sexo del lechón, b) presentación al parto, c) orden de nacimiento, d) número de lechones nacidos, e) presencia de nacidos muertos en la camada, f) presencia de momificados en la camada, g) peso al nacimiento, h) puntuación de viabilidad, i) TR1, j) TR2, k) SO1 ajustada a 90 segundos mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS 1992) incluyendo el TO1 como covariable, l) SO2, m) FC1, n) FC2, o) TT, p) TM, q) tiempo entre el inicio del parto y el nacimiento del lechón, r) condición corporal de la cerda medida como el espesor del tocino dorsal cuando entró en la sala de maternidad, s) AD, t) AF y, u) administración de oxitocina. Las variables medidas en una escala continua (peso al nacimiento, variables fisiológicas, ...) se han subdividido en cuatro niveles siguiendo los percentiles 0,15; 0,50; 0,85. Antes de descartar todos los efectos fijos no significativos, se testó si alguno de ellos alcanzaba la significación estadística al incluirlo junto con los efectos inicialmente significativos. Finalmente se añadieron en el modelo dos efectos aleatorios: i) el efecto de la camada que se asumió que seguía una distribución log-gamma de parámetro σ_c^2, y ii) el efecto aditivo del lechón, representado por una distribución normal $N(0, \sigma_a^2)$. El efecto de la camada se ha tratado como variable dependiente del tiempo ya que durante los dos primeros días post-parto se intercambiaban algunos lechones con el fin de estandarizar las camadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 899 lechones estudiados, 117 causaron baja antes del destete (13,0 %), y de éstos 58 murieron durante el primer día de vida (49,6 %) y 17 en el segundo (10,0 %). Las 42 bajas restantes se repartieron a lo largo de la cría, hasta las cuatro semanas de edad.

Seis efectos fijos alcanzaron la significación estadística: peso al nacimiento ($P < 0,001$), TR2 ($P < 0,001$), presentación al parto ($P < 0,05$), tiempo desde el inicio del parto ($P < 0,05$), presencia de lechones nacidos muertos ($P < 0,001$) y presencia de momificados ($P < 0,001$). Pesos al nacimiento (gráfico 1) y temperaturas rectales altas favorecieron la supervivencia de los lechones, al igual que las presentaciones anteriores. La influencia del peso al nacimiento ya había sido descrita por varios autores (Tuchscherer et al. 2000; Herpin et al. 2001; Knol et al. 2002), aunque los procedimientos utilizados nos han permitido detectar que las diferencias se concentran en los pesos más extremos, mientras que los individuos con pesos comprendidos entre los percentiles 0,15 y 0,85, muestran unas curvas de supervivencia casi idénticas. Las temperaturas rectales muy bajas fueron claramente perjudiciales para la viabilidad de los animales en concordancia con los resultados de Tuchscherer et al. (2000) y Herpin et al. (2002). Tiene un efecto similar el tiempo transcurrido desde el inicio del parto hasta el nacimiento del lechón, dado que las diferencias sólo son significativas para los intervalos más largos, superiores al percentil 0,85. Por otro lado, cuando aparecen nacidos muertos o momificados en la camada, la viabilidad de los restantes lechones se ve reducida. Esto podría indicar que la causa que ha generado la muerte y/o momificación de algunos lechones afecta también a los restantes, siendo más perjudiciales las influencias que originan nacidos muertos (generalmente problemas estrechamente relacionados con el parto) que los factores causantes de momificaciones (interfieren en uno o varios momentos de la gestación), tal como evidencian las razones de riesgo respectivas (3,9 *vs* 1,9).

Las estimaciones de los componentes de varianza para el efecto camada y el efecto individuo denotan la importancia del ambiente común, el cual genera una varianza que dobla la varianza aditiva (1,939 y 0,996 respectivamente). Desafortunadamente, aunque la utilización de este modelo categórico posibilita el análisis de datos agrupados, al no asumir ningún tipo de distribución base, no permite la estimación de la heredabilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ducrocq V., International workshop on genetic improvement of functional traits: longevity, Uppsala, Sweden. Interbull Bulletin 20: 41-47, 1999.

Ducrocq V., Sölkner J., 1998. Proc. 6th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod. 27: 447-448.

Fernández A., Toro M.A., Rodríguez C., Silió L., 2002. En: 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Montpellier, comunicación 15-08.

Herpin P., Damon M., Le Dividich J., 2002. Livest. Prod. Sci. 78: 25-45.

Herpin P., Hulin J.C., Le Dividich J., Fillaut M., 2001. J. Anim. Sci. 79: 5-10.

Knol E.F., Leenhouwers J.I., Van der Lende T., 2002. Livest. Prod. Sci. 78: 47-55.

Prentice R., Gloeckler L., 1978. Biometrics 34: 57-67.

Randall G.C.B., 1971. Can. J. Comp. Med. 35: 141-146.

SAS, 1992. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Tuchscherer M., Puppe B., Tuchscherer A., Tiemann U., 2000. Theriogenology. 54: 371-388.

Varley M.A., The neonatal pig: development and survival. CAB International, Wallingford, UK, 1995.

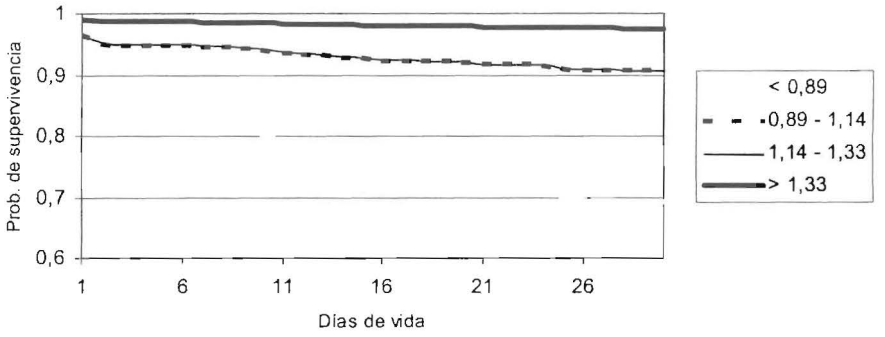
Zaleski H.M., Hacker R.R., 1993. J. Anim. Sci. 71: 298-305.

Tabla 1. Estimaciones de la razón de riesgo (RR) para los diferentes niveles del peso al nacimiento (PN), RT2, presentación al parto (PP), tiempo desde el inicio del parto (TIP), presencia de nacidos muertos (PNM) y presencia de momificados (PMM).

	RR		RR		RR
PN (kg)		TR2 (ºC)		TIP (min)	
< 0,89	12,672***	<35,4	7,671**	< 10	1,000
0,89 – 1,14	3,781*	35,4 – 37,4	1,114^{NS}	10 – 45	1,340^{NS}
1,14 – 1,33	3,831*	37,4 – 38,3	1,943^{NS}	45 – 85	1,121^{NS}
>1,33	1,000	> 38,3	1,000	> 85	3,906*
		No registrado	3,156^{NS}	No registrado	1,824^{NS}
PP					
Anterior	1,000	PNM		PMM	
Posterior	1,859*	No	1,000	No	1,000
No registrado	1,941*	Sí	3,894***	Sí	1,852*

NS No significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

Gráfico 1. Funciones de supervivencia esperada para los diferentes niveles del peso al nacimiento (kg).



Este estudio ha sido financiado por el proyecto CYCIT AGL2000-1229-CO3.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 456-458

EL USO DE LA PREDICCION DE GENOTIPOS EN EL ANALISIS DE SUPERVIVENCIA: UN CASO DE SCRAPIE

C. Díaz[1], Z. Vitezica[2],R. Rupp[2], J. M. Elsen[2].

[1] Dpto de Mejora Genética Animal. INIA. Madrid
[2] Station d'Amélioration Génétique des Animaux. INRA – Toulouse. France.

INTRODUCCION

El *scrapie* es una enfermedad neurodegenerativa de los ovinos, que pertenece al grupo de las Encefalopatias Espongiformes Transmisibles (EET). Hasta la fecha se sabe que en gran parte la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad depende de mutaciones puntuales que afectan a los codones 136, 154 y 171 de la ORF del gen PrP (ej. Elsen y col. 1999).

El análisis de supervivencia ofrece un marco apropiado para el análisis de resistencia-susceptibilidad a enfermedades (Elsen y col., 1999). Sin embargo, la existencia de información faltante, en nuestro caso los genotipos de los individuos, se traduce en una pérdida de datos para la estimación de los factores de riesgo.

Hasta la fecha existen varios algoritmos para calcular las funciones de probabilidad de genotipos utilizando la información del pedigrí y el genotipo conocido en algunos individuos. Bajo el modelo monogénico la verosimilitud de un pedigree puede calcularse eficientemente utilizando el algoritmo de "peeling" (Elston y Stewart, 1971). El peeling consiste en un eficiente reordenamiento de las adiciones y multiplicaciones necesarias para calcular la verosimilitud del pedigree. Fernando y col. (1993) y Janss y col. (1995) presentaron un algoritmo iterativo (peeling iterativo) que permite calcular las probabilidades de los genotipos de los miembros de un pedigree.

El objetivo de este trabajo es comparar dos estrategias para la inclusión de la información genotípica en la estimación del riesgo.

MATERIALES Y METODOS

Datos: Los datos se han obtenido de un rebaño experimental (Langlade) del INRA donde se produjo un brote de *scrapie* en Abril de 1993. La infección se mantiene de manera natural en la finca desde entonces. El archivo de datos contiene 4049 registros de animales Romanov nacidos entre 1983 y 2002. Se puso como condición que los animales nacidos con anterioridad a 1993 estuvieran presentes en el momento del brote infeccioso. Del total de animales, cuatrocientos cuarenta y siete murieron de *scrapie*. Un animal fue asignado al grupo de *scrapie* si presentó los síntomas típicos de la enfermedad y el resultado de la histología fue positivo. Los animales que no murieron antes de marzo del 2002 o murieron por otra causa fueron censurados asignándoseles dicha fecha, como fecha de censura. Los animales han estado involucrados en distintos protocolos experimentales, por lo cual se definió un efecto de cuatro clases para tomar en cuenta su posible efecto en el riesgo.

Estimación de genotipos: De los 4049 animales en datos, 2656 tenían un genotipo conocido. En el primer análisis, los individuos con genotipo faltante fueron asignados a un grupo de desconocidos. Posteriormente, se procedió a estimar los genotipos de los individuos desconocidos utilizando el algoritmo de "peeling iterativo" (Fernando y col.,1993). Respecto de un individuo i con genotipo I_i, el algorithmo particiona el pedigree en dos partes. La porción anterior al individuo i incluye sus padres y sus hermanos completos, mientras que la posterior contiene la información proveniente de sus apareamientos y sus descendientes. La probabilidad de que i tenga genotipo I_i dada la información fenotípica del resto de los miembros del pedigrí es igual a:

$$P(I_i/\mathbf{y}) = \frac{P(\mathbf{y_a}, I_i)P(y_i/I_i)P(\mathbf{y_p}/I_i)}{L}$$

L es la verosimilitud del pedigrí, igual a $L = \sum_{I_i} P(\mathbf{y_a}, I_i)P(y_i/I_i)P(\mathbf{y_p}/I_i)$ siendo $P(\mathbf{y_a}, I_i)$ la probabilidad conjunta de los fenotipos de los miembros anteriores a i y su genotipo I_i, y $P(\mathbf{y_p}/I_i)$ la probabilidad condicional de los fenotipos de los miembros posteriores a i, dado que i tiene genotipo I_i. La probabilidad $P(y_i/I_i)$ es la penetrancia. Estas probabilidades definen las ecuaciones de peeling anterior y posterior, respectivamente. Para calcular la probabilidad de los genotipos, ambas ecuaciones fueron empleadas iterativamente, hasta que la diferencia absoluta de las probabilidades estimadas entre dos iteraciones fue menor a 0.001 para cada uno de los animales.

Modelo de análisis: el tiempo de supervivencia se expresó como la edad de los animales al diagnóstico de *scrapie*. Así

$$\lambda_i(t) = \lambda_0 \exp\{F_j + ALI_k(\pi) + Sx_m + \mathrm{PrP}_n + rtds_o\}$$

donde, $\lambda_i(t)$ representa el riesgo de un individuo a morir de *scrapie* en el tiempo t ; λ_0 es el riesgo medio de la población; F_j es un efecto clase que representa el efecto que sobre el riesgo presentan los distintos grupos experimentales; ALI_k es el efecto de la interacción de la edad del individuo con el nivel de infección asumiendo que éste cambia al inicio de cada paridera (□). Los animales se dividieron en tres grupos de edad, de hasta dos años, tres años y mayores de tres años; Sx_m es el sexo de cada individuo; PrP_n es el efecto del genotipo de cada animal o desconocido en su defecto y $rtds_o$ es el efecto de la interacción del tipo de cria (materna y artificial) con el estado de la enfermedad de la madre (*scrapie o no_scrapie*). En el segundo modelo, el riesgo se modeliza de la misma forma excepto para el genotipo. Para incluir dicha información se genera un vector de probabilidades, que representa la probabilidad que cada individuo tiene de llevar cada genotipo.

donde b representa la regresión de la probabilidad del genotipo l del individuo i sobre el riesgo del individuo a la edad t; x_{il} es la probabilidad del individuo i de tener el genotipo l; ng es el número de genotipos probables (diez). El Survival Kit fue utilizado para realizar los análisis (Ducrocq y Solkner, 1998)

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Figura 1 se presentan los riesgos estimados para cada genotipo para el modelo donde se utilizan las probabilidades de genotipos y donde se asignan los genotipos desconocidos a una clase desconocida. Si se comparan las barras, se puede observar que los individuos de genotipo VRQ-VRQ presentan un riesgo unas tres veces mayor que el heterocigoto (ARQ-VRQ) y seis veces mayor que el homocigoto ARQ-ARQ . Resultados similares han sido descritos en esta misma población (Elsen y col., 1999). Dicha relación de riesgos parece ser similar entre las dos estrategias (Figura 1). Sin embargo, cuando se utiliza la asignación de los genotipos desconocidos a una misma clase, esta clase pasa a ser el cuarto grupo en riesgo, denotando que existe una heterogeneidad de individuos en dicho grupo. Al introducir la estimación de probabilidades de genotipos, los riesgos relativos atribuidos a cada genotipo estimado son de una magnitud similar a los correspondientes a los genotipos conocidos (Figura 1). En la Figura 2 se presentan los riesgos relativos al riesgo del genotipo ARQ-VRQ estimados para cada clase de

genotipos en función de la probabilidad de genotipo estimado. Asumiendo como extremos el caso Pb=1.0, sin incertidumbre respecto de los genotipos, y la situación con total desconocimiento (Pb=0.0). En dicha figura se puede observar que a partir de probabilidades del orden de 0.3, se pueden determinar diferentes riesgos para cada genotipo.

Figura 1. Riesgos relativos al genotipo ARQ-VRQ en función del genotipo y de la probabilidad de genotipo.

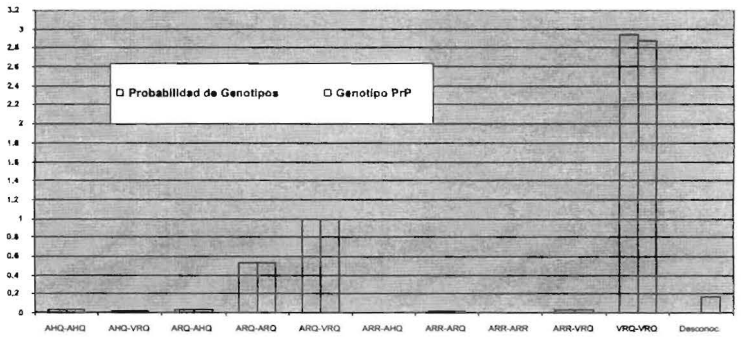
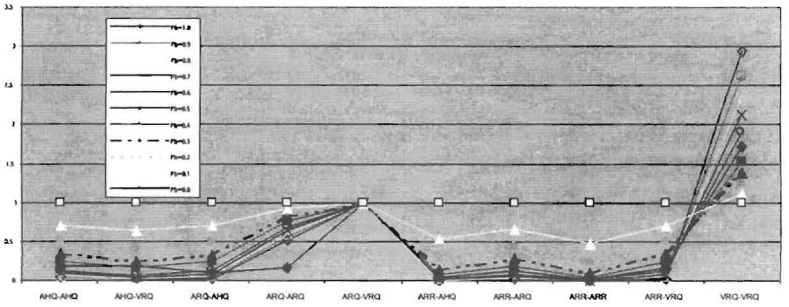


Figura 2. Riesgos relativos a genotipo ARQ-VRQ en función de la incertidumbre en la probabilidad asignada.



Estos resultados sugieren que la estimación de los genotipos podría permitir la discriminación de grupos de riesgo. Sin embargo, la escasa diferencia observada entre ambas estrategias podría atribuirse al número reducido de datos completos en el grupo de animales de genotipo desconocido.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración de Daniel Lajous y Francis Eychenne en la obtención de la información. Este trabajo se ha desarrollado parcialmente con la financiación de la OECD Co-operative Research Programme: Biological Resource Management for Sustainable Agriculture Systems.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ducrocq, V., Solkner. 1998. Proc. 6th WCGALP. 27:447-448.

Elsen, J.M., Amigues, Y., Schelcher, F., Ducrocq, V., Andreoletti, O., Eychenne, F., TienKhang, J.V., Poivey, J.P., Lantier, F., Laplanche, J.L., 1999. Arch.Virol. 144: 431-445.

Elston, R.C.; Stewart, J. Hum.Hered. 21 (1971) 523-542.

Fernando, R.L., Stricker, C., Elston, R.C., Theor.Appl.Genet. 87 (1993) 89-93.

Janss, L.L.G., Thompson, R., van Arendonk, J.A.M., Theor.Appl.Genet. 91 (1995) 1137-1147

ANÁLISIS DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA SUPERVIVENCIA DEL CONEJO DE CARNE

Sánchez J.P.[1], Peiró R.[1], Silvestre M.A.[1 2], Baselga M.[1]

[1] Dto. Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia (UPV). Camino de Vera, 14. 46022 Valencia.
[2] Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación. Amadeo de Saboya, 2. 46010 Valencia.

INTRODUCCIÓN

El carácter longevidad de las hembras no ha sido especialmente estudiado hasta este momento. En los esquemas de selección se contemplan básicamente caracteres de tipo reproductivo como el tamaño de camada en diferentes momentos; nacimiento y destete principalmente; y caracteres de crecimiento, como el índice de conversión, evaluado indirectamente a través de la velocidad de crecimiento. (Baselga y Blasco,1989). La vida productiva de las hembras es un carácter que podría ser de interés debido a que la tasa de reposición anual es del 120%, incrementando sustancialmente los costes por este concepto. Además la mayoría de las bajas son de animales que se encuentran en sus primeros ciclos reproductivos y que aún no han amortizado su valor de compra. (Ramón y Rafel, 1999).

El objetivo de este trabajo es determinar los factores ambientales que pudieran influir en la duración de la vida productiva de las conejas de producción cárnica; y una vez conocidos, extender el modelo y determinar los parámetros genéticos del carácter. Para ello se empleará la metodología estadística del análisis de supervivencia. (Klabfleisch y Prentice ,1980).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se han utilizado los datos recogidos, desde principios de 1992 hasta finales del 2001, en un núcleo de selección asociado a la U.P.V., situado en Sant Carles de la Rápita (Tarragona). La base de datos incluye todos los registros reproductivos de 13 generaciones, lo que supone un total de 2.489 hembras. El archivo de genealogía completo consta de 3031 registros.

De los 2.489 registros un 47% son censurados, registros de los que se tienen información parcial, se conoce el momento de inicio de la vida productiva pero no se conoce el final. La mayor parte de los datos censurados lo son porque, aunque fuesen animales sanos y productivos, por cuestiones de manejo del núcleo era preciso reponerlos por los de la generación siguiente para continuar con el proceso de selección. El 53% restante son animales de los que se conoce exactamente su fecha de eliminación o muerte y esta se debe a problemas patológicos o productivos.

La metodología estadística empleada ha sido la del análisis de supervivencia, en concreto, un modelo de regresión de Cox de riesgos proporcionales, debido a que por la reducida dimensión de la base de datos es posible asumir el mayor coste computacional que esta técnica requiere en comparación con otros métodos totalmente paramétricos como la regresión con un de Weibull. Para los análisis, el software utilizado ha sido el Survival Kit 3.0 (Ducrocq y Sölkner, 1998).

Los factores registrados, que podrían actuar como variables regresoras en los análisis fueron:

- Año-Estación (AE) dependiente del tiempo, con 19 niveles. El cambio de un nivel a otro se produce cada 6 meses (1 de Enero y 1 de Julio de cada año). Con este factor se pretende recoger el efecto que actúa por igual sobre todos los animales que en un momento dado están en la explotación.
- La generación (GE) a la que pertenece la hembra, que no es dependiente del tiempo.
- Orden de parto (OP), dependiente del tiempo y con 9 niveles. El primero recoge a las hembras nulíparas y el noveno recoge a las hembras que han tenido 8 o más partos. Los cambios de nivel de este factor se producen en el momento de cada parto.
- La facilidad con la que la hembra queda preñada en cada ciclo (ED), con dos niveles. El primer nivel incluye a hembras que quedan preñadas en menos de 28 días desde el parto anterior o en menos de 21 días desde el primer intento de monta si son hembras nulíparas; el segundo nivel incluye a las hembras que para quedar preñadas han necesitado más días. Esta variable también es dependiente del tiempo

y los cambios de nivel se producen a los 28 días de haber tenido un parto, indicando si la hembra en ese momento está preñada o no.

- El número de nacidos vivos (NV) que en cada parto tiene la hembra, este factor se trata como categórico con 8 niveles. La primera categoría incluye a todas las hembras cuando son nulíparas, la segunda a las que habiendo tenido algún parto tienen 0 ó 1 nacido vivo, la tercera a las que tienen 2 ó 3 nacidos vivos y así sucesivamente hasta llegar a la octava categoría que incluye a las que tienen en algún parto 11 o más nacidos vivos. Este factor también es dependiente del tiempo y cambia de nivel con cada parto.

Para estudiar la significación de cada uno de estos factores así como de la interacción entre OP y ED, se emplea la prueba del ratio de verosimilitudes entre modelos anidados.

Una vez elegidos los factores ambientales que influyen sobre la supervivencia, el modelo se extiende, incluyendo entre las variables regresoras el efecto del padre y la mitad del efecto del abuelo materno, para estudiar la varianza genética del carácter y, estimada ésta, aplicar un modelo animal para estimar los efectos ambientales. Esta extensión implica hacer un análisis bayesiano, para llegar por un lado a la moda de la distribución posterior marginal de la varianza de padre y condicionando a esta estima, llegar a la distribución posterior conjunta de los efectos ambientales y de los efectos genéticos (Ducrocq y Casella, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras la realización de la prueba del ratio de verosimilitudes se observó que GE, no tenía un efecto significativo ($p>0.05$), cuando en el modelo estaba incluido AE, esto es debido a la colinealidad que existe entre ambos factores. En esta misma prueba se apreció el efecto significativo ($p<0.001$) de la interacción entre OP y ED, por lo que se incluyó en el análisis la combinación de ambos.

El modelo de regresión propuesto fue por tanto:

$$h_i\left(t\left|x_{AE_i}(t), x_{OPED_i}(t), x_{NV_i}(t)\right.\right) = h_0(t)e^{\left\{x'_{OPED_i}(t)b_{OPED} + x'_{AE_i}(t)b_{AE} + x'_{NV_i}(t)b_{NV}\right\}}$$

Donde:

$h_i\left(t\left|x_{AE_i}(t), x_{OPED_i}(t), x_{NV_i}(t)\right.\right)$=Riesgo del animal i, afectado por unos efectos ambientales concretos en cada tiempo.

$h_0(t)$=Función de riesgo base.

$X'_{OPEDi}(t)$=combinación entre OP y ED, dependiente del tiempo.$+_{OPED}$ = Coef. regresión

$X'_{AEi}(t)$ = año estación, dependiente del tiempo. $+_{AE}$ = Coef. regresión

$X'_{NVi}(t)$ = número de nacidos vivos, dependiente del tiempo. $+_{NV}$ = Coef. Regresión

Con este modelo se obtuvo un valor de R^2 de Maddala de 30.46%.

Con un modelo padre y con un modelo padre abuelo-materno, extensiones del anterior, se estimó la varianza de padre, sobre su distribución marginal posterior, obteniendo los resultados que se observan en la tabla 1. Estos resultados son similares a los obtenidos por Garreau et al. (2001).

TABLA 1. Estimas de la varianza de padre y de la heredabilidad en diferentes modelos.

Modelo	Moda	Media	h^2_{log}*	h^2_{efe}*
Padre	0.033	0.039	0.08	0.128
Padre-Ab. Mater.	0.023	0.027	0.056	0.091

* heredabilidad en escala logarítmica y heredabilidad efectiva (Yazdi et al.,2002), usando la estima de la moda de la marginal posterior.

En estos resultados se observa que la longevidad en conejo es heredable, aunque su valor es bajo. La estima de la varianza de padre con el modelo padre es mayor que con el modelo padre-abuelo materno debido a que el número de hembras con el que se aparea cada macho es bastante reducido y esto provoca una mayor dispersión en las estimas de los valores genéticos de los machos, debido al efecto de la media de las hembras con las que se aparea.

La estimación de los efectos ambientales y conjuntamente con ellos los valores genéticos se hace a partir de un modelo animal sobre la moda de la distribución

posterior conjunta, condicionada a 4 veces la estima de la varianza de padre, estimada con el modelo padre-abuelo materno.

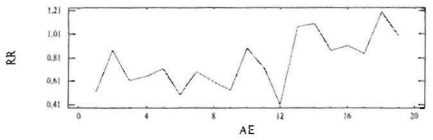


Figura 1. Riesgos relativos entre niveles de AE.

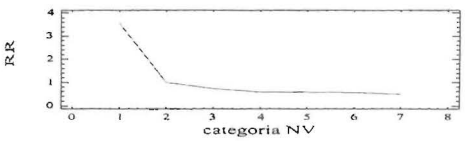


Figura 2. Riesgos relativos entre niveles de NV.

En las figuras 1 y 2 se presentan los riesgos (exp{1*β_i}) relativos entre los diferentes niveles para AE y NV, siendo β_i la estima del coeficiente de regresión para el nivel i de cada uno de estos factores.

Se observa que para el efecto AE existe bastante variabilidad, siendo el ratio de riesgos máximo el que existe entre el segundo semestre de 1997 (AE12) y el mismo periodo de 2000 (AE18); ((exp{β_{AE18}})/(exp{β_{AE12}})=2.90).

Para NV la categoría que incluye a las hembras que sin ser nulíparas tienen un parto con 1 o con ningún nv, presenta un riesgo mucho mayor que el resto. Además se aprecia que a medida que aumenta el número de nacidos vivos de una coneja menor es el riesgo a que está expuesta.

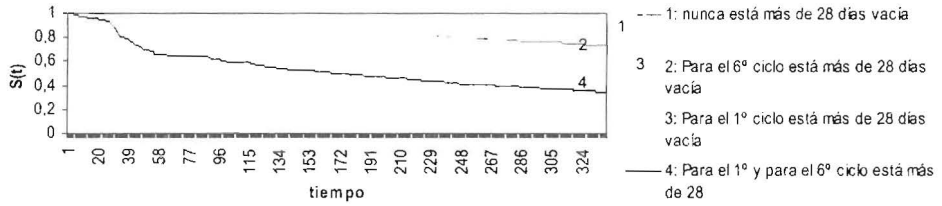


Figura 3. Funciones de supervivencia para diferentes carreras productivas.

Para estudiar la combinación entre OP y ED, por estar involucrada OP que no solo depende del tiempo sino que también evoluciona con él, el estudio de los efectos de los diferentes niveles hay que hacerlo considerando en qué momento de su vida se encuentra la hembra (función de riesgo base) (Gröhn et al., 1997). Para ello se han planteado 4 carreras productivas de 339 días, todas desarrolladas en la misma época, con la misma producción en todos los partos (NV=7) y pertenecientes a hembras con la misma valoración. La única diferencia es que en algunas hay retrasos debidos a dificultades para quedar preñada, lo que lleva a que en un mismo tiempo unas hembras estén en un ciclo y otras en otro. Con estas carreras productivas se calcularon las funciones de supervivencia (figura 3) a partir de las estimas de todos los efectos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2000-0595-C03 (CYCIT).

BIBLIOGRAFÍA

Baselga, M.; Blasco, A. 1989. Editorial Mundi-Prensa.

Ducrocq, V. ; Casella, G. 1996. Genet. Sel. Evol. 28, 505-529.

Ducrocq, V. ; Sölkner, J. 1998. 6th WCGALP, Armidale, Vol. 27, 447-450.

Garreau, H. ; Larzul, C. ; Ducrocq, V. 2001. 9émes J. Rech. Cunicole, Paris, 217-220.

Gröhn, Y. T.; Ducrocq, V.; Hertl, J. A. 1997. J. Dairy Sci. 80:1755-1766.

Klabfleisch, J. D.; Prentice, R. L. 1980. John Whiley & Sons, New York. NY.

Ramón, J.; Rafel, O. 1999. Cunicultura. 141: 237-240.

Yazdi, M. H.; Visscher, P. M. ; Ducrocq, V.; Thompson, R. 2002. J. Dairy Sci. 85: 1563-1577.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 462-464

DETECCIÓN DE LA POTENCIAL RESPUESTA INDIRECTA A LA SELECCIÓN SIN ESTIMACIÓN PREVIA DE LA CORRELACIÓN GENÉTICA

J. Altarriba[1], L. Varona[3], C. Moreno[1], G. Yagüe[1] y C. Sañudo[2]
[1]Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
[2]Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
[3]Área de Producció Animal. Centre UdL_IRTA. Lleida.

INTRODUCCIÓN

La detección y predicción de respuestas correlacionadas en poblaciones seleccionadas es una cuestión de interés, si se desea tener una perspectiva amplia acerca de los cambios que la actuación selectiva está produciendo, o puede producir, en un amplio conjunto de caracteres no incluidos en el criterio de selección. En muchas ocasiones, la importancia o beneficio asociado a estos caracteres no ha sido establecido a priori con precisión.

La predicción de tales respuestas indirectas exige el conocimiento de la correlación genética existente entre los distintos pares de caracteres (Falconer y Mackay, 1996). Sin embargo, la estimación de este parámetro exige grandes volúmenes de información y adolece, por lo general, de baja precisión y elevado costo. Estas cuestiones plantean graves problemas adicionales cuando se requiere el registro de caracteres complejos o se manifiestan éstos en ambientes especiales.

El objetivo de este trabajo es presentar un método sencillo que permite evaluar la posible respuesta correlacionada en un programa de selección sin el requisito de la estimación previa de la correlación genética. Esta metodología se aplicará al actual plan de mejora de la raza bovina Pirenaica y permitirá analizar las consecuencias del mismo sobre los caracteres de la canal y de la carne, así como sobre variables morfométricas.

MATERIAL Y METODOS

Se han utilizado 125 terneros pirenaicos, hijos de 9 toros de inseminación, nacidos en distintas explotaciones de Navarra. A los 5 meses de edad ingresaron en 6 tandas los años 1999 a 2001 (2 tandas por año) en el CENSYRA de Movera. Fueron alimentados con concentrados ad libitum con alta energía para permitir el máximo crecimiento hasta el sacrificio, que tuvo lugar a los 400 +/- 23 días de edad en un matadero comercial cercano. Se obtuvieron 42 variables de la canal y de carne. Así mismo, en 109 de estos animales se realizaron 12 mediciones zoométricas en condiciones normalizadas en vivo.

La detección de la potencial respuesta genética se ha realizado mediante el siguiente modelo lineal independiente para cada uno de los caracteres estudiados:

$$y_{ij} = \mu + b_a A_{ij} + T_i + b_u \hat{u}_{ij} + e_{ij} \qquad \{1\}$$

donde y_{ij} es el fenotipo del *j*ésimo individuo perteneciente a la tanda *i* (T), b_a es la pendiente de la covarianza con la edad del individuo al sacrificio (A_{ij}), b_u es la pendiente de la covarianza que relaciona el fenotipo del individuo con su valor mejorante ($\hat{u}$) para el carácter peso a los 210 días de edad, evaluado de acuerdo con Varona et al. (1997). La valoración genética utilizada corresponde a la realizada el

año 2002 con las siguientes magnitudes: 18.788 datos de peso obtenidos entre los 110 y 310 días de edad, correspondientes a 14.378 animales, que han permitido valorar a 24.212 animales de la población. Los 125 individuos estudiados no disponían de datos de peso propio en las explotaciones de origen.

El efecto b_u permite evaluar la posible respuesta correlacionada entre el criterio de selección ($\hat{u}$) para el carácter peso a los 210 días de edad y el fenotipo correspondiente a cualquiera de los caracteres estudiados, ya que, como es posible deducir analíticamente, este valor depende de la correlación genética (r_a) entre los caracteres *k* y peso a los 210 días (resultados sin publicar):

$$b_u = b(y_k,\hat{u}_{210}) = r_a\, \sigma(u_k) / \sigma(u_{210}) \qquad \{2\}$$

siendo $\sigma(u_k)$ y $\sigma(u_{210})$ las varianzas genéticas del carácter *k* y de peso a los 210 días.

Igualmente, el coeficiente de correlación entre *y* y $\hat{u}$, tiene los siguientes componentes causales:

$$r(y_k,\hat{u}_{210}) = r(u_{210},\hat{u}_{210})\, r_a\, h_k \qquad \{3\}$$

siendo $r(u_{210},\hat{u}_{210})$ la precisión del índice de selección ($\hat{u}_{210}$) y h^2_k la heredabilidad.

Es preciso destacar que en las relaciones {2} y {3} no intervienen componentes de correlación ambiental o residual, salvo que $\hat{u}_{210}$ de los animales estudiados se construya con el fenotipo propio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las tablas 1 y 2 se muestran los resultados ofrecidos por el modelo {1}. Se observa que es posible deducir de forma coherente los caracteres correlacionados con el criterio de selección, así como la cuantía de los potenciales cambios inducidos en los caracteres que muestran significación estadística.

El estudio realizado por simulación revela que la significación estadística (p=0,05) se alcanza cuando la potencia del diseño es superior al 50%. Este valor se obtiene con la estructura de los datos de este trabajo y, por ejemplo, con r_a>0,5 y h^2_k>0,4.

Tabla 1. Resultados del modelo {1} en los caracteres morfométricos.

y	Sig. b	b(y,û)	r(y,û)
Alzada cruz	0,0008	0,1397	0,3347
Alzada dorso	0,0019	0,1276	0,3112
Alzada grupa	0,0007	0,1548	0,3385
Anchura coxofemoral	0,1561	0,0375	0,1467
Anchura encuentros	0,1669	0,0467	0,1430
Anchura espalda	0,4010	0,0308	0,0872
Anchura interilíaca	0,0297	0,0541	0,2231
Contorno posterior	0,0371	0,1713	0,2143
Longitud corporal	0,0009	0,2093	0,3345
Longitud grupa	0,3349	0,0309	0,0995
Perímetro torácico	0,0424	0,1440	0,2087
Profundidad pecho	0,0005	0,1122	0,3529

Tabla 2. Resultados del modelo {1} en los caracteres de canal y carne

y	Sig. b	b(y,û)	r(y,û)
Peso vivo sacrificio	0,0014	1,9098	0,2982
Peso canal fría	0,0046	1,1833	0,2662
Longitud canal	0,0587	0,0873	0,1792
Anchura canal	0,0042	0,0631	0,2686
Longitud pierna	0,0008	0,1018	0,3113
Anchura pierna	0,2780	0,0224	0,1034
Perímetro pierna	0,0010	0,1893	0,3059
Profundidad pierna	0,0009	0,0690	0,3091
Longitud lomo	0,0087	0,0678	0,2468
Compacidad canal	0,0071	0,0074	0,2530
Conformación (EUROP)	0,0913	0,0287	0,1603
Engrasamiento (1-5)	0,7435	-0,0035	-0,0313
Rendimiento canal	0,8884	-0,0031	-0,0134
Peso autópodo	0,0067	0,0077	0,2560
Longitud autópodo	0,0031	0,0589	0,2782
Perímetro autópodo	0,1067	0,0174	0,1539
Superficie lomo	0,0008	0,2665	0,3138
Diámetro máximo lomo (A)	0,5381	0,0054	0,0588
Diámetro transverso lomo (B)	0,0167	0,0186	0,2258
pH 24 horas	0,9550	0,0000	-0,0054
L* grasa subcutánea	0,2847	-0,0469	-0,1020
a* grasa subcutánea	0,8971	0,0024	0,0124
b* grasa subcutánea	0,2765	0,0165	0,1037
% músculo	0,2658	0,0416	0,1060
% desechos	0,9747	-0,0001	-0,0030
% grasa	0,0490	-0,0511	-0,1865
% hueso	0,6289	0,0098	0,0462
pH 7 días	0,2154	-0,0008	-0,1185
L* músculo	0,9939	-0,0002	-0,0007
a* músculo	0,5907	-0,0126	-0,0514
b* músculo	0,7800	0,0045	0,0267
Capacidad retención agua	0,7661	0,0061	0,0284
Pérdidas cocinado	0,4077	0,0233	0,0790
Mioglobina/gr	0,3374	-0,0063	-0,0915
Estrés 20% compresión	0,1275	0,0430	0,1462
Estrés 80% compresión	0,2508	-0,0852	-0,1104
Carga máxima compresión	0,1391	-0,1430	-0,1413
Intensidad olor	0,4075	0,0337	0,0790
Intensidad flavor	0,8445	0,0103	0,0187
Jugosidad	0,7771	-0,0214	-0,0271
Terneza	0,4223	0,0774	0,0766
Apreciación global	0,3489	-0,0634	-0,0893

AGRADECIMIENTOS

Al personal del CENSYRA de Movera, a Pere Albertí del SIA de Zaragoza y al grupo de Ciencia de la Carne del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza, por el apoyo técnico y logístico prestado en la determinación de las variables. Igualmente, a CONASPI por las facilidades en la localización y uso de los animales.

REFERENCIAS

Falconer D., MacKay T., 1996. Longman (Fourth edition)

Varona L., Moreno C., García-Cortés L.A., Altarriba J., 1997. Lives. Prod. Sci., 47: 201-209.

ESTUDIO DEL DESARROLLO DEL FETO Y SU SUPERVIVENCIA EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO

Argente, M.J*; Santacreu, M.A†; Climent, A†; Blasco, A. †

*Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández. Campus de Orihuela. Ctra. de Beniel, Km. 3,2. 03312 Orihuela. Alicante.
†Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Apartado de correos 22012. 46071 Valencia.

INTRODUCCIÓN

La capacidad uterina depende del número de embriones implantados y de la supervivencia fetal. Argente et al. (2003) han sugerido que la supervivencia fetal podría estar relacionada con la competencia por el espacio uterino y los nutrientes, puesto que estos factores parecen condicionar el desarrollo de la placenta fetal y del feto. El objetivo del trabajo es examinar la relación entre número de embriones implantados y el espacio uterino disponible por feto en conejas ovariectomizadas unilateralmente (**ULO**) e intactas, provenientes de un experimento de selección divergente por capacidad uterina (Blasco et al., 2000). Otro objetivo del trabajo es estudiar si el espacio uterino disponible condiciona el desarrollo del feto y su supervivencia a los 18 días de gestación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron los datos de 37 conejas ovariectomizadas unilateralmente (ULO) y 26 conejas intactas. Estas hembras procedían del quinto y del sexto parto de la generación 6 de un experimento de selección divergente por capacidad uterina descrito en Argente et al. (1997). La capacidad uterina fue estimada como el tamaño de camada en hembras ULO (Blasco et al., 1994). El ovario izquierdo fue extirpado en todas las hembras ULO antes de alcanzar su pubertad. Todas las hembras fueron sacrificadas a los 18 días de su última gestación. Se recogió el tracto reproductivo junto con el ovario adyacente. Se realizó una incisión en la pared del cuerno uterino siguiendo la línea antimesiometral para extraer los fetos con sus placentas fetales, y medir la longitud de las placentas maternas y el espacio uterino entre dos placentas maternas contiguas. Se registró la posición y el estado del feto. Se diferenciaron tres posiciones del feto dentro del cuerno uterino: oviductal (el primer feto más cercano al ovario), intermedia y cervical (el último feto más cercano al cervix). Respecto al estado, los fetos se clasificaron en fetos vivos, muertos, y cuando no había feto se podía observar la presencia de la placenta fetal y materna, o sólo la presencia de la placenta materna. Se analizaron los datos de 291 fetos procedentes de las hembras ULO y 236 fetos procedentes de las hembras intactas.

Los caracteres medidos sobre la hembra fueron la tasa de ovulación (TO), el número de embriones implantados (EI), el número de fetos vivos a los 18 días de gestación (FV), y el número de fetos muertos desde la implantación hasta los 18 días de gestación (NM = EI-FV). Los caracteres medidos sobre el feto fueron la longitud de su placenta materna (LPM), el peso de su placenta fetal (PPF), el peso del feto (PF), el espacio disponible por embrión implantado (EDEI) y el espacio disponible por feto (EDF).

Para analizar los caracteres TO, EI, FV y NM en el grupo de hembras ULO se utilizó un modelo con los efectos fijos de línea y orden de parto. En el grupo de hembras intactas se añadió el efecto fijo de lado del cuerno uterino y el efecto aleatorio de hembra. Los caracteres del feto en el grupo de las hembras ULO fueron analizados con un modelo mixto que incluyó los efectos fijos de línea, orden de parto, posición dentro del cuerno uterino y el efecto aleatorio de hembra. Se añadió el efecto fijo de lado del cuerno uterino para analizar los caracteres del feto en el grupo de las hembras intactas. Se estimaron las medias por mínimos cuadrados para TO, EI, FV y MN en el grupo de hembras ULO utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico S.A.S. (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Las medias por mínimos cuadrados para el resto de los caracteres fueron estimadas utilizando el procedimiento MIXED del S.A.S.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las hembras intactas de la línea de alta capacidad uterina (CU+) tienen una mayor tasa de implantación que las hembras intactas de la línea de baja capacidad uterina (CU-), 1.43 embriones implantados por cuerno uterino. Esta diferencia se mantiene hasta los 18 días de gestación (tabla 1). También las hembras ULO de la línea CU+ presentan una mayor tasa de implantación que las de la línea CU- cuando se corrige por la tasa de ovulación (1.17 embriones implantados, $P \leq 0.10$). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por otros autores para la tasa de implantación en la segunda gestación a lo largo de las 10 generaciones de selección de este experimento (Blasco et al., 2000, en hembras ULO) o al final del mismo (Santacreu et al., 2000, en hembras intactas).

Los fetos vivos de las hembras intactas de la línea CU+ disponen de un menor espacio uterino que los de la línea CU- y el tamaño de su placenta materna es menor (tabla 1). Estas diferencias estarían relacionadas con el mayor atestamiento uterino alcanzado en las hembras intactas de la línea CU+ puesto que, cuando se corrige por el número de embriones implantados a través de una regresión cuadrática, la diferencia entre las líneas desaparece para el espacio uterino y se reduce a la mitad para la longitud de la placenta materna (-0.13 ± 0.07 cm, $P \leq 0.10$). En hembras ULO no se observan diferencias entre las líneas CU+ y CU- en dichos caracteres, debido a que tienen el mismo número de embriones implantados.

La tabla 2 muestra que el espacio uterino disponible por embrión implantado se reduce de forma cuadrática al aumentar la tasa de implantación por cuerno uterino. Se observa que el espacio uterino disponible por embrión a número de embriones constante (después de ser corregido por el número de embriones implantados con una regresión cuadrática) está relacionado negativamente con el aumento del número de fetos muertos desde la implantación hasta los 18 días de gestación (tabla 2). Sin embargo, el coeficiente de regresión es menor que el encontrado al final de la gestación (Argente et al., 2003). También en cerdo se ha encontrado un aumento de la mortalidad fetal asociada a una disminución del espacio disponible por feto (Chen y Dziuk, 1993), esta asociación aumenta al progresar la gestación (Wu et al., 1987). El espacio uterino disponible por feto incide sobre todo en el desarrollo de la placenta materna, y en menor grado afecta al desarrollo de la placenta fetal y del feto a los 18 días de gestación. El desarrollo de la placenta materna, fetal y del feto presenta un coeficiente de regresión más elevado con el espacio uterino disponible en las hembras ULO, debido a que su único cuerno uterino funcional tiene un grado de atestamiento mayor (por ej. las hembras ULO

implantan 9.54 embriones en su cuerno uterino funcional y sus fetos disponen de un espacio uterino de 3.45 cm vs las hembras intactas que implantan 5.27 embriones por cuerno uterino y el espacio uterino disponible por feto es de 4.26 cm, tabla 1).

CONCLUSIONES

En conejos, se observa que un aumento en el número de embriones implantados por cuerno uterino disminuye el espacio uterino disponible por feto de forma cuadrática a los 18 días de gestación. Una disminución del espacio uterino disponible parece estar asociado con una reducción del desarrollo del feto y de su supervivencia fetal, posiblemente a través de una limitación en el desarrollo de la placenta materna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Argente, M.J., M.A. Santacreu, A. Climent, A. Blasco, G. Bolet. 1997. J. Anim. Sci. 75: 2350-54

Argente, M.J., M.A. Santacreu, A. Climent, A. Blasco. 2003. J. Anim. Sci. (aceptado).

Blasco, A., M. J. Argente, C. S. Haley, M. A. Santacreu. 1994. J. Anim. Sci. 72: 3066-3072.

Blasco, A., J.A. Ortega, M.A. Santacreu. 2000. 7th Worl Rabbit Congress. Vol A: 347-352.

Chen, Z. Y., P. J. Dziuk. 1993. J. Anim. Sci. 71: 1895-1901.

Santacreu, M.A., M.J. Argente, M.L. Moce, A. Blasco. 2000. 7th Worl Rabbit Congress. Vol A: 491-5.

Wu, M. C., M. D. Hentzel, P. J. Dziuk. 1987. J. Anim. Sci. 65: 762-770.

Tabla 1. Medias por mínimos cuadrados (M) y diferencia entre las líneas de alta (CU+) y de baja (CU-) capacidad uterina líneas en el grupo de hembras ovariectomizadas unilateralmente (ULO) e intactas.

	ULO		INTACTAS	
	M	Diferencia (CU+)-(CU-)	M[a]	Diferencia (CU+)-(CU-)
Tasa de ovulación	12.43	-0.75 ± 0.68	6.48	0.81 ± 0.63
Embriones implantados	9.54	0.83 ± 0.75	5.27	1.43 ± 0.61 *
Embriones implantados [b]	9.54	1.17 ± 0.70†	5.27	0.74 ± 0.35 *
Fetos vivos	7.86	0.63 ± 0.67	4.72	1.30 ± 0.53 *
Número de fetos muertos	1.68	0.20 ± 0.41	0.73	-0.14 ± 0.35
Longitud de la placenta materna, cm	1.72	0.02 ± 0.07	1.75	-0.23 ± 0.09*
Peso de la placenta fetal, gr	1.42	0.01 ± 0.08	1.36	-0.02 ± 0.08
Peso del feto, gr	2.22	-0.19 ± 0.17	2.02	-0.26 ± 0.20
Espacio uterino disponible por feto, cm	3.45	-0.11 ± 0.21	4.26	-0.98 ± 0.42*

[a]:Media por mínimos cuadrados por cuerno uterino, las hembras intactas tienen dos cuernos uterinos funcionales. [b]:Número de embriones implantados corregidos por tasa de ovulación. *: P<0.05. †: P<0.10.

Tabla 2. Coeficientes de regresión con sus errores estándar (ES).

		ULO		INTACTAS	
Y	X	$b_1 \pm ES$	$b_2 \pm ES$	$b_1 \pm ES$	$b_2 \pm ES$
EDEI	EI	-0.51 ± 0.25*	0.03 ± 0.01*	-3.68 ± 0.26***	0.25 ± 0.02***
REDEI	NM	-0.16 ± 0.06**		-0.19 ± 0.10†	
LPM	EDF	0.49 ± 0.04***	-0.03 ± 0.00***	0.32 ± 0.03***	-0.02 ± 0.00***
PPF	EDF	0.16 ± 0.02***		0.03 ± 0.01*	
PF	EDF	0.04 ± 0.01***		0.02 ± 0.01*	

EDEI: espacio uterino disponible por embrión implantado (cm). REDEI: espacio uterino disponible por embrión de implantación (cm) corregido por el número de embriones implantados usando regresión cuadrática. LPM: longitud de la placenta materna (cm). PPF: peso de la placenta fetal (gr). PF: peso del feto (gr). EI: número de embriones implantados. NM: número de fetos muertos desde la implantación hasta los 18 días de gestación. EDF: espacio uterino disponible por feto (cm).

RESPUESTA A LA SELECCIÓN EN EL CRUZAMIENTO DOBLE EN EL CONEJO DE CARNE

Costa C.[1], Baselga M.[1], Silvestre M.A.[1,2], Sánchez J.P.[1]

[1]Dto. Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera, 14. 46022 Valencia.
[2]Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. Amadeo de Saboya, 2. 46010 Valencia

INTRODUCCIÓN

Los programas de Mejora Genética de conejo de carne se basan en el desarrollo de líneas maternales y paternales que intervienen en el cruce a tres vías. A pesar de que las líneas se utilizan para su cruce, el método de selección más común es el de selección intralínea (Matheron y Rouvier, 1977; Rochambeau, 1988; Blasco, 1996), esperando que la respuesta obtenida se exprese también en el cruce. La respuesta a la selección intralínea ha sido estimada mediante poblaciones control, modelo mixto o metodología bayesiana. El objetivo de este trabajo es evaluar, comparando coetáneamente individuos cruzados procedentes de diferentes momentos del programa de selección, la respuesta obtenida en un cruzamiento doble en conejo cuando las líneas implicadas se han seleccionado intralínea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las líneas implicadas en este trabajo son tres: A, V y R. Las líneas maternales A y V son seleccionadas intralínea por tamaño de camada al destete y la línea paterna R se selecciona por ganancia media diaria postdestete. Las hembras cruzadas procedentes del cruce de hembras de la línea V y machos de la línea A, se cruzaban con machos de la línea R para obtener el conejo de carne industrial. En este estudio se compararon dos tipos de animales cruzados: H_1 y H_2. Las hembras H_1 (H_2) procedían del cruce de machos de la generación 16 (29) de la línea A con hembras de la generación 26 de la línea V. Las generaciones 26 y 29 de las líneas V y A, respectivamente, eran las generaciones actuales, sin embargo la generación 16 de la línea A era una generación antigua de la que se criopreservaron embriones y que posteriormente se descongelaron y transfirieron para obtener animales vivos coetáneos a las generaciones actuales. Los gazapos H_1 (H_2) se obtuvieron del cruce de las hembras H_1 (H_2) con los machos de la generación 6 (18) de la línea R. En dicha línea, la generación actual era la 18 y la antigua era la generación 6, de la que también se criopreservaron embriones. Así, los animales H_1 y H_2 representan respectivamente la versión semi-antigua y actual del doble cruzamiento.

El grupo de hembras H_1 (H_2) se componía de 83 (107) animales y éstas tuvieron un total de 475 (686) partos. Las hembras se apareaban por primera vez a los 4,5 meses de vida y 11-12 días después del parto se llevaba de nuevo a la monta. Se realizaban adopciones entre los animales que pertenecían al mismo grupo experimental. Los caracteres estudiados para las hembras fueron: peso de la camada al nacimiento (PCN), peso de la camada al destete (PCD), tamaño de camada total (TCT), nacidos vivos (NV) y tamaño de camada al destete (TCD). Los caracteres estudiados para los gazapos fueron: peso individual al destete (PD) y a los 65 días (PP), ganancia media diaria (GMD), consumo diario (CD) e índice de conversión (IC). Los modelos utilizados para el análisis de los caracteres de las hembras se muestran en la tabla 1.

TABLA 1: Modelos utilizados para el análisis de los caracteres de las hembras

Carácter	GE	AE	OP	R1	R2	EF	NV	DA	m	a	p	e
PCN	x	x	x	x			x		x	x	x	x
PCD	x	x	x		X			x	x	x	x	x
TCT	x	x				x				x	x	x
NV	x	x				x				x	x	x
TCD	x	x				x		x		x	x	x

GE: Grupo Experimental (2 niveles); **AE**: Año-estación; (cada nivel de 60 días 9 niveles). **OP**: Orden de Parto, 1ª, 2ª y más de 2 partos (3 niveles); **R1** (**R2**): Ritmo de gestación (lactación), 3 niveles dependiendo del intervalo entre el parto actual y el anterior (posterior): <45 d, 45-60 d, >60 d.; **EF**: Estado Fisiológico, 1 para nulíparas, 2 y 3 para lactantes o no lactantes respectivamente, y 4 y 5 para multíparas lactantes o no lactantes respectivamente. **NV**: covariable, nacidos vivos; **DA**: covariable, nº después de la adopción; **m**: efecto aleatorio del macho de la línea R intrageneración; **a** (**p**): efecto aditivo (permanente no aditivo) de la hembra; **e**: error.

Los modelos utilizados para el análisis de los caracteres de los gazapos consideraban GE y AE en todos los casos, y además para el PP se incluía los días de engorde como covariable, para el CD se incluía el PD como covariable, y para el IC se incluía el peso al final del cebo como covariable. Los caracteres se analizaron por mínimos cuadrados generalizados bajos los modelos especificados anteriormente, usando el programa PEST (Groeneveld, 1990). La significación estadística se calculó para α=0.05).

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 2, se presentan el nº de datos utilizados para el análisis, las medias y los errores estándar de los diferentes caracteres de la hembra. En dicha tabla, también se presentan los contrastes entre los grupos genéticos de hembras, observándose diferencias significativas para los caracteres TCT y NV, a favor del cruce actual.

TABLA 2: Descripción de los datos de las hembras y los contrastes entre el grupo genético de hembras para los caracteres del tamaño de camada.

Carácter	N	Media	EE	H_1-H_2	Cov
TCT	1153	10.01	2.98	-0.83 ± 0.36*	
NV	1155	8.46	3.72	-1.16 ± 0.42*	
TCD	1069	7.59	2.71	0.21 ± 0.18	0.82 ± 0.02*
PCN (g)	1148	499	197	11 ± 14	49 ± 1*
PCD (g)	932	4204	1300	80 ± 207	224 ± 15*

Estas diferencias significativas no se observaban para el TCD cuando se incluía en el análisis la covariable tamaño de camada tras la adopción. Sin embargo, esta covariable es significativa, y si la eliminamos la diferencia resultante entre ambos grupos genéticos es de +0.74 ([1.16*0.82] – 0.21) a favor de H_2. La respuesta a la selección intralínea por generación había sido evaluada en anteriores trabajos (García y Baselga, 2002), siendo la estima de 0.085 gazapos destetados por generación. De esta forma, si la heterosis del cruzamiento no se modificaba, la superioridad esperada de la H_2 era de 0.51 gazapos destetados (0.5*12*0.085), un valor ligeramente inferior al observado. De la misma forma para el TCT y NV, los valores observados eran ligeramente superiores a los esperados. Estas diferencias podrían deberse a que las respuestas estimadas por García y Baselga (2002) estuvieran subestimadas debido a la consanguinidad acumulada desde la generación 17 a la 29, lo que reduciría las medias de los caracteres del tamaño de

camada (Farghaly, 2000). Por otro lado, tampoco se observaba ningún efecto del grupo genético ni sobre el peso de la camada al nacimiento ni sobre el peso de la camada al destete, cuando ambos se corregían por NV.

TABLA 3: Descripción de los datos de los gazapos y los contrastes entre el grupo genético de gazapos para los caracteres de crecimiento de los gazapos.

Carácter	N	Media	EE	H_1-H_2	Cov
PD (g)	7249	534	153	34 ± 4*	
PP (g)	6591	1993	301	11 ± 7	28 ± 8*
GMD (g/d)	6578	42	6	-0.6 ± 0.1*	
CD(g/d)	725	103	18	-1 ± 1	55 ± 4*
IC	725	2.48	0.323	0.03 ± 0.02	0.21 ± 0.06*

En la Tabla 3, se presentan el nº de datos utilizados para el análisis, las medias y los errores estándar de los diferentes caracteres de crecimiento de los gazapos. También se presentan los contrastes entre los grupos genéticos de gazapos para los diferentes caracteres estudiados. En dicha tabla, se observa que los gazapos H_1 eran significativamente más pesados al destete que los H_2 (actuales). Este hecho era esperado debido al mayor tamaño de camada de las hembras H_2 (Rochambeau et al., 1994; Feki et al., 1996; García y Baselga, 2003). Sin embargo, los gazapos H_2 tienen una GMD significativamente superior a los H_1, aunque inferior a la esperada, expresando en parte el mayor valor genético de los R18 frente a los R6. Respecto al CD y al IC, no se observa ninguna diferencia significativa. Estos resultados son contrarios a lo esperados, ya que se esperaría como respuesta correlacionada a la respuesta directa de GMD, un aumento del CD y una disminución del IC (Torres et al., 1992; Feki et al., 1996). Una posible explicación podría ser el tipo de pienso suministrado a los animales habitualmente utilizado para controlar una nueva enfermedad conocida como la enteropatía mucoide, y que podría tener diferentes efectos sobre el crecimiento de los animales, dependiendo del genotipo de los animales en cuestión.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos AGR/1/FS/01 (Fundación Séneca) y AGL2000-0595-C03 (CYCIT).

REFERENCIAS

Blasco A, 1996. 6th World Rabbit Congress, 2: 219-227. Toulouse, 9-12 julio.
Farghaly HM, 2000. 7th World Rabbit Congress, A: 375-379. Valencia, 4-7 julio.
Feki S, Baselga M, Blas E, Cervera C, Gómez EA, 1996. Livest. Prod. Sci., 45:87-92.
García ML y Baselga M, 2002. Livest. Prod. Sci., 74:45-53.
García ML y Baselga M, 2003. Livest. Prod. Sci., 78: 91-98.
Groeneveld E, 1990. Instit. Animal Husdandry and Animal Behaviour, Fal. Germany.
Matheron G y Rouvier R, 1977. Ann. Genet. Sel. Anim., 9: 393-405.
Rochambeau H, 1988. 4th World Rabbit Congress, 2: 1-68. Budapest, 10-14 octubre.
Rochambeau H, Bolet G, Tudela F, 1994. Proc. Sém. modèle animal, 143-150. La Colle sur Loup, 26-29 sept.
Torres C, Baselga M, Gómez EA, 1992. J. Appl. Rabbit Res., 15-884-888.

ESTUDIO DEL DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO EN DOS LÍNEAS DE CONEJOS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE POR CAPACIDAD UTERINA

Mocé, M.L.,[1] Santacreu, M.A.,[2] Climent, A.,[2] Blasco, A.[2]

[1]Departamento de Producción Animal y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad Cardenal Herrera-CEU. Edificio Seminario. 46113 Moncada.
[2]Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. P.O. Box 22012. 46071 Valencia.

INTRODUCCIÓN

La selección por tamaño de camada provoca cambios en la supervivencia prenatal y en la tasa de ovulación (Blasco *et al.*, 1993). En ratón, existen trabajos en los que se ha observado que la selección por tamaño de camada o componentes del tamaño de camada provocaba un desarrollo embrionario temprano más acelerado (Al-Shorepy *et al.*, 1992; Durrant *et al.*, 1980). El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto que la selección divergente por capacidad uterina ha tenido sobre la supervivencia y el desarrollo embrionario temprano (72 - 75 horas post coito) en conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Las hembras proceden de las generaciones 13, 14 y 15 de un experimento de selección divergente por capacidad uterina (Blasco *et al.*, 2000). A las hembras pertenecientes a la generación 13 se les practicó una ovariectomía unilateral entre las 14-16 semanas de vida. Las hembras pertenecientes a las generaciones 14 y 15 son hembras intactas. Se utilizaron 124 hembras de la línea de alta capacidad uterina (CU+) y 115 hembras de la línea de baja capacidad uterina (CU-).

Caracteres: Los animales eran sacrificados 72-75 horas después de la monta. Los oviductos y primer tercio de los cuernos uterinos se perfundieron con 5 mL de DPBS suplementado con 0.132 gr de cloruro cálcico por litro, 0.2% de BSA y antibióticos. Los caracteres controlados fueron: tasa de ovulación (TOT), número de embriones (EMT) y número de oocitos (OO). Se calculó la tasa de recuperación, (TR), como (EMT+ OO)/TOT, y la tasa de fecundación, (TF), como EMT/(EMT + OO). En las hembras intactas los embriones recuperados fueron catalogados como mórulas tempranas (MT), mórulas compactadas (MC) y blastocistos (B).

Análisis estadísticos: Las variables TR, TF, porcentaje de mórulas tempranas (PMT), porcentaje de mórulas compactadas (PMC) y porcentaje de blastocistos (PB),fueron normalizadas usando la transformación propuesta por Freeman y Tukey (1950). El modelo utilizado para estimar las medias por mínimos cuadrados de los caracteres TOT, TR, TF y EMT, incluyó los siguientes efectos: línea con dos niveles (CU+ y CU-), tratamiento con dos niveles (unilateralmente ovariectomizada (ULO) o intacta), estado de lactación al sacrificio con cuatro niveles (nulíparas, primíparas no lactantes, multíparas no lactantes y multíparas lactantes), multíparas incluía animales de 2º a 4º parto y año-estación jerarquizado a tratamiento con cinco niveles (ULO verano 2000, ULO invierno 2000-01, Intacta invierno 2000-01, Intacta primavera 2001 e Intacta verano 2001). Para el carácter EMT se incluyó como covariable la tasa de ovulación. Para los caracteres PMT, PMC y PMT el modelo no incluyó el

efecto tratamiento. El programa estadístico usado fue el GLM del paquete estadístico SAS (SAS 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas líneas presentaron tasas de ovulación similares (tabla 1), resultado que corrobora los observados en experiencias anteriores realizadas sobre conejas ovariectomizadas unilateralmente o intactas (Argente *et al.*, 1997 y Santacreu *et al.*, 2000, respectivamente). La tasa de fecundación fue similar entre las dos líneas, pero debido a la mayor tasa de recuperación en las hembras CU+, se observaron diferencias entre las dos líneas en el número de embriones recuperados a tasa de ovulación constante. En estudios previos, se constató la existencia de diferencias entre ambas líneas en la supervivencia embrionaria a día 7 de gestación (0.89 en CU+ versus 0.77 en CU-, Santacreu *et al.*, 2000).

Tabla 1. Medias por mínimos cuadrados y errores estándar (e.s) para la línea de alta capacidad uterina (CU+) y diferencias de las medias por mínimos cuadrados entre línea CU+ y línea de baja capacidad uterina (CU-).

Carácter	(CU+) ± e.s	(CU+) - (CU-) ± e.s	
Tasa de ovulación	12.79±0.33	0.46±0.29	ns
Tasa de recuperación	0.80±0.03	0.08±0.03	**
Tasa de fecundación	0.94±0.02	-0.02±0.02	ns
Número de embriones[a]	9.74±0.45	0.96±0.40	*
Porcentaje mórulas tempranas[b]	0.11±0.03	-0.05±0.03	ns
Porcentaje mórulas compactadas[b]	0.51±0.04	-0.13±0.04	**
Porcentaje blastocistos[b]	0.38±0.04	0.17±0.04	***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, ns: no significativo.

[a] Análisis usando tasa de ovulación como covariable

[b] Porcentajes calculados respecto a número de embriones.

Por otra parte, se observaron diferencias en el desarrollo embrionario entre las dos líneas (Tabla 1 y Figura 1), presentando las hembras CU+ estadíos embrionarios más avanzados que los de la línea CU- (11% de mórulas tempranas versus 16%, 51% versus 64% de mórulas compactadas y 38% de blastocistos versus 21 %). En ratón, se ha observado que aquellas líneas que son seleccionadas por tamaño de camada o componentes del mismo presentan un desarrollo embrionario temprano más avanzado que las líneas no seleccionadas (Al-Shorepy *et al.*, 1992; Durrant *et al.*, 1980) o que las seleccionadas por bajo tamaño de camada (Moler *et al.*, 1981). Son varios los factores que afectan al desarrollo embrionario temprano y dependen de la madre, del embrión y de las interacciones que se establecen entre ellos. Así, se ha observado que en el oviducto y útero de conejas, se secreta IGF-I (Herrler *et al.*, 1997) y este factor favorece el desarrollo embrionario temprano (Herrler *et al.*, 1998). En porcino, la cantidad de estradiol secretada por el embrión está correlacionada positivamente con la concentración de IGF-I en el fluido uterino (Wilson y Ford 1997). Por otra parte, en embriones de ratón ha sido identificado un gen que afecta a la velocidad de las divisiones embrionarias tempranas (gen Ped). Los animales que presentan la variante alélica del gen que incrementa la velocidad de las divisiones embrionarias tempranas, presentan una mayor supervivencia entre la mitad de la gestación y el nacimiento (Exley y Warner 1999). Así pues, parece ser que un

desarrollo embrionario temprano más acelerado está asociado a una mayor supervivencia y por tanto a un tamaño de camada más elevado en ratón.
Los resultados obtenidos indican que las diferencias en número de embriones entre ambas líneas aparecen antes de las 72-75 horas de gestación y que la línea seleccionada por alta capacidad uterina muestra un desarrollo embrionario temprano más acelerado que la línea CU-, pero es necesaria la realización de nuevos estudios que permitan determinar si las diferencias que aparecen antes de las 72-75 horas de gestación se deben a factores maternos o embrionarios.

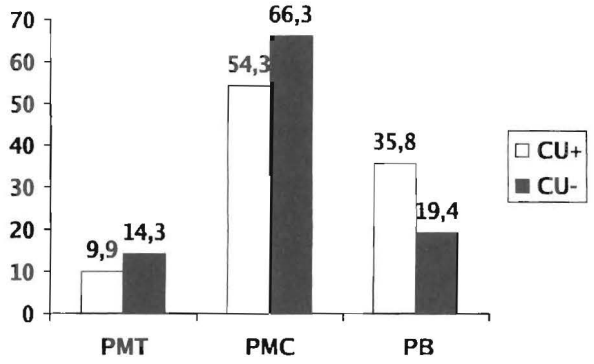


Figura 1. Medias para los porcentajes de mórulas tempranas (PMT), mórulas compactadas (PMC) y blastocistos (PB) para la línea de alta capacidad uterina (CU+) y la línea de baja capacidad uterina (CU-). Los porcentajes están calculados respecto al número total de embriones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Shorepy S.A., Clutter A.C., Blair R.M., Nielsen M.K., 1992. Biol. Reprod. 46: 958-963.

Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Bolet G., Blasco A., 1997. J. Anim. Sci. 75: 2350-2354.

Blasco A., Ortega J.A., Santacreu M.A., 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A, 347-352.

Blasco A., Bidanel J. P., Bolet G., Haley C.S., Santacreu M.A., 1993. Livest. Prod. Sci. 37, 1-21.

Durrant B.S., Eisen E.J., Ulberg L.C., 1980. J. Reprod. Fert. 59: 329-339.

Exley G.E., Warner C.M., 1999. Immunogenetics 49: 653-659

Freeman, M.F., J.W. Tukey. 1950. Ann. Math. Stat. 21:607-611.

Herrler A., Einspanier R., Beier H.M., 1997. Theriogenology 47: 1595-1607.

Herrler A., Krusche A.C., Beier H.M., 1998. Biol Reprod 59: 1302-1310.

Moler T.L., Donahue S.E., Anderson G.B., Bradford G.E., 1981. J. Anim. Sci. 51 (2): 300-303.

Santacreu M.A, Argente M.J., Mocé M.L., Blasco A., 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A, 491-495.

SAS 1997. SAS /Stat *User's Guide (Release 6.03). SAS Inst, Cary, NC.*

Wilson M. E., Ford S.P., 1997. Biol. Reprod. 56: 380-385.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 474-476

RIESGO GENÉTICO DEL OVINO ARAGONÉS A LA ENFERMEDAD DE SCRAPIE

C. Acín*, I. Martín-Burriel*, J. Lyahyai, E. Monleón, C. Rodellar, J.J. Badiola, P. Zaragoza.
Laboratorio de Genética Bioquímica.
Centro Nacional de Referencia de las EETs.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

* Ambos autores han contribuido por igual al desarrollo del trabajo

INTRODUCCIÓN

El Scrapie es una enfermedad neurodegenerativa que afecta a las especies ovina y caprina (Cuille and Chelle 1938, Dickinson 1976), y que también ha sido descrita en otras especies silvestres como el muflón (Wood et al. 1991). La primera evidencia de la influencia genética en esta enfermedad fue descrita por Dickinson et al. (1968). Posteriormente se descubrieron varios polimorfismos en el gen PrP murino que estaban ligados a diferencias en el periodo de incubación de ratones inoculados con scrapie (Carlson et al. 1986, 1988, 1994, Westaway et al. 1987). En estudios posteriores, se encontraron relaciones equivalentes en el ganado ovino (Hunter et al. 1987, 1989, 1991, 1992 y 1993). En esta especie se han descrito dos alelos en el codón 136 (A, V), dos en el codón 154 (R, H) y tres en el codón 171 (Q, R, H). La combinación de estos polimorfismos da lugar a cinco alelos relacionados con distintos grados de susceptibilidad a la enfermedad.

En el trabajo que se presenta, se han analizado un total de 950 animales de diferentes razas ovinas aragonesas. En estos animales se ha calculado las frecuencias alélicas y genotípicas para el gen PrP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del presente estudio se analizaron 950 animales procedentes de distintas razas ovinas aragonesas. Estas poblaciones se corresponden con 4 rebaños de Rasa Aragonesa, 4 de Ojinegra de Teruel, 2 de Cartera, 2 de Maelana, 2 de Roya Bilbilitana y 1 de Ansotana. De cada rebaño se muestrearon todos los machos y hasta 50 hembras reproductoras elegidas de forma aleatoria.

A partir de sangre entera con EDTA como anticoagulante se obtuvo el ADN genómico utilizando técnicas estándar. Para el genotipado, los polimorfismos de los codones 136 y 154 fueron detectados mediante el análisis por PCR- RFLPs, empleando las enzimas de restricción BspHI por el método descrito por O'Doherty et al. (2000). El polimorfismo del codón 171 fue detectado mediante la amplificación de dos PCR alelo específicos y posterior digestión con la enzima Bsl-1 para el alelo R_{171} y Acc-1 para el alelo H_{171} descrito por Yuzbasiyan-Gurkan et al. (1999).

Las frecuencias alélicas y genotípicas para cada codón y para cada alelo relacionado con la susceptibilidad a scrapie se calcularon utilizando el programa GENEPOP (Raymond and Rousset, 1995). El mismo programa fue utilizado para

determinar posibles desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg, mediante el cálculo de valores de P exactos. Finalmente, se realizó un test exacto de Fisher para estimar los valores de P correspondientes a diferencias entre las frecuencias alélicas de las distintas poblaciones utilizando el mismo paquete informático.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados de las frecuencias alélicas para cada codón en cada raza. El codón 154 presenta frecuencias muy elevadas para el alelo Arginina (R), en las seis poblaciones analizadas con valores superiores al 90%. Sólo se ha observado un animal de raza Rasa Aragonesa homocigoto para el alelo H_{154}. Las razas Rasa Aragonesa, Ojinegra de Teruel, Roya Bilbilitana y Cartera presentan frecuencias prácticamente fijadas para el alelo Alanina (A_{136}) en el codón 136, con valores de frecuencia superiores al 95%, mientras la frecuencia para el alelo Valina (V_{136}) en la Maellana y Ansotana 9,7 y 13.5 por ciento respectivamente. La variabilidad más alta se ha encontrado en el codón 171, siendo el alelo Glutamina (Q_{171}) el más frecuente, con valores de frecuencia entre 52,9 y 84,1% en los rebaños de Cartera y Maellana. Catorce genotipos se han observado en las razas analizadas. Tanto los codones de forma independiente como los haplotipos presentaron equilibrio Hardy-Weinberg. En la Tabla 2 se muestran las frecuencias observadas para cada uno de los alelos relacionados con la susceptibilidad a scrapie. Las frecuencias alélicas mostraron diferencias significativas entre las distintas poblaciones. Aunque los datos brutos de frecuencias genotípicas no se presentan, podemos destacar que el genotipo más común ha sido el homocigoto PrP^{ARQ} / PrP^{ARQ} seguido del heterocigoto PrP^{ARR} /PrP^{ARQ}. La raza Cartera muestra una frecuencia relativamente alta de genotipos resistentes PrP^{ARR} /PrP^{ARR} (19,44%), y esta es la única población donde el genotipo PrP^{ARR} /PrP^{ARQ} es el más frecuente. Por otro lado, la raza Maellana es la que más animales tiene de riesgo, con un 12,2% de heterocigotos PrP^{ARQ} /PrP^{VRQ}, un 1,7% de homocigotos PrP^{VRQ} /PrP^{VRQ} y un 4,3% de heterocigotos PrP^{ARR} /PrP^{VRQ}.

Tabla 1 Frecuencias alélicas para cada codón

		Codon 136		Codon 154		Codon 171		
	n	A	V	R	H	Q	R	H
Rebaños sanos								
Ansotana	48	86,5	13,5	91,1	8,9	61,5	28,1	10,4
Cartera	144	98,6	1,4	99,7	0,3	52,9	45,7	1,4
Maellana	126	90,3	9,7	97,6	2,4	84,1	15,1	0,9
Ojinegra	211	97,0	3,0	99,8	0,2	76,7	14,4	8,8
Roya Bilbilitana	110	97,2	2,8	99,1	0,9	76,9	20,7	2,4
Rasa Aragonesa	311	97,2	2,8	95,5	4,5	78,5	15,1	6,4

Tabla 2 Frecuencias alélicas (%) de los alelos relacionados con la susceptibilidad a scrapie.

	ARR	AHQ	ARH	ARQ	VRQ
Ansotana	28,1	3,1	9,4	45,8	12,5
Cartera	46,0	0,4	1,5	50,7	1,5
Maellana	15,2	2,6	0,9	71,3	10

Ojinegra	14,6	0,3	8,2	73,9	3,0
Roya Bilbilitana	21,4	1,0	2,6	72,4	2,6
Rasa Aragonesa	15,0	4,7	6,4	70,9	2,9

DISCUSIÓN

El alelo más frecuente ha sido el PrP^{ARQ}, seguido de PrP^{ARR} en todas las razas analizadas. No obstante, es importante indicar que se aprecia una clara variación entre rebaños en las frecuencias alélicas del gen PrP. Catorce genotipos se han observado en las razas autóctonas aragonesas. Las poblaciones en peligro de extinción Ansotana y Maellana, pueden ser consideradas como razas Valina con frecuencias del alelo PrP^{VRQ} del 12,5 y 10 por ciento, respectivamente. Las frecuencias alélicas y genotípicas están en concordancia con las descritas en otras razas valina de Europa, Australia y Nueva Zelanda (Hunter et al., 1997; Hunter and Cains, 1998; Thorgeirsdottir et al., 1999; Drögemüller et al., 2001). La variante V_{136} se clasifica como de alto riesgo para la infección dentro de las razas Valina (Hunter et al., 1993; 1994; 1996; Thorgeirsdottir et al., 1999), si bien la presencia de los alelos H_{154} o R_{171} en heterocigosis proporciona cierta resistencia a los individuos con el polimorfismo V_{136} (Hunter et al., 1996). En las razas Valina Aragonesas, la variante H_{154}, si se presenta, es muy rara y por tanto la sensibilidad de los individuos elevada.

BIBLIOGRAFÍA

- Cuille J., Chelle P-L. (1938) La tremblante du mouton est bien inoculable. CR Acad. Sci. 206: 1687-1688.
- Dickinson A.G., Meikle V.M.H., Fraser H. (1968) Identification of a gene which controls the incubation period of some strains of scrapie agent in mice. J. Comp. Pathol. 78: 293-299.
- Drögemüller C, Leeb T, Distl O (2001) PrP genotype frequencies in German breeding sheep and the potential to breed for resistance to scrapie. Vet Rec 149: 349-352.
- Hunter N, Cairns D (1998) Scrapie free Merino and Poll Dorset sheep from Australia and New Zealand have normal frequencies of scrapie susceptible PrP genotypes. J Gen Virol 79: 2079-2082.
- Hunter N. (1993) Genetic control of scrapie incidence in sheep and its relevance for bovine spongiform encephalopathy in cattle. Rev. Med. Virol. 3: 195-200.
- Hunter N., Cairns D., Foster J.D., Smith G., Goldmann W., Donnelly K. (1997) Is scrapie solely a genetic diseases ? Nature 386: 137.
- O'Doherty E, Aherne M, Ennis S, Weavers E, Hunter N, Roche JF, Sweeney T (2000) Detection of polymorphisms in the prion protein gene in a population of Irish Suffolk sheep. Vet Rec 146: 335-338.
- Raymond M. y Rousset F. (1995) GENEPOP: population genetics software for exact test and ecumenicism. J. Hered 86.248-249.
- Thorgeirsdottir S, Sigurdarson S, Thorisson HM, Georgsson G, Palsdottir A (1999) PrP gne polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. J Gen Virol 80: 2527-2534.
- Wood J.L.N., Lund L.J., Done S.H. (1991) The natural occurrence of scrapie in moufflon. Vet. Rec. 130: 25-27.
- Yuzbasiyan-Gurkan GVm Krehbiel JD, Cao Y, Venta PJ (1999) Development and suefulness of new polymerase chain rection-based test for detection of different alleles at codons 136 and 171 of the ovine prion protein gene. Am J Vet Res 60: 884-887.

EFECTO DEL POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA CASEÍNA α_{s1} SOBRE LOS CONTENIDOS DE CASEÍNAS α_{s1} Y α_{s2} EN LA LECHE DE LAS RAZAS CAPRINAS MALAGUEÑA Y MURCIANO-GRANADINA.

Pastora Agüera[1], Baltasar Urrutia[2], Alfonso Sánchez[3], Cristina Aranda[6], José L. Ares[7], Mónica R. García-Risco[5], Juan Carrizosa[2], Adolfo Falagán[4], Lourdes Amigo[5], Marcel Amills[6], Armand Sánchez[6] y Juan M. Serradilla[1].

[1] Departamento de producción Animal. Universidad de Córdoba.

[2] Centro de Investigación y Desarrollo Agroalimentario. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de Murcia.

[3] Asociación Española de Criadores de la Cabra Malagueña.

[4] Departamento de Producción Agraria. Universidad Politécnica de Cartagena.

[5] Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.

[6] Departamento de Ciencias Animales y de los Alimentos. Universidad Autónoma de Barcelona.

[7] Centro de Investigación y Formación Agraria de Córdoba. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía.

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la relación entre el polimorfismo genético del gen CSN1S1 de la caseína α_{s1} y el contenido de caseína α_{s1}, caseína total y proteína en la leche de cabra, principalmente en las razas francesas (Remeuf, 1993; Ricordeau y cols. 2000). Las variantes alélicas de este gen son clasificadas en cuatro grupos asociados a diferentes niveles de síntesis de dicha caseína en la leche, el constituido por los alelos "fuertes" A, B y C (3.6 g caseína α_{s1} /kg leche), el alelo "intermedio" E (1,6 g/kg), los alelos "débiles" D y F (0.6 g/Kg) y el alelo "nulo" O que determina la ausencia de dicha caseína en la leche (Grosclaude y cols., 1987).

En los trabajos realizados sobre las principales razas españolas se ha descrito un efecto significativo del gen de la caseína α_{s1} sobre el contenido de proteína, caseína total en la leche y en el rendimiento de cuajada obtenido en condiciones de laboratorio (Díaz, 1993; Díaz y cols. 1994; Angulo y cols., 1996; Sánchez y cols. 1998). En lo referente a los contenidos de proteínas y caseínas en la leche, el orden relativo de los genotipos observado es el mismo que el observado para otras razas, pero los efectos alélicos estimados difieren de los descritos para las razas francesas (Analla y cols., 2000). Sin embargo, no se ha podido disponer hasta el momento en estas razas de una estimación suficientemente fiable del efecto del mencionado polimorfismo genético sobre el contenido de caseína α_{s1}, debido a las dificultades existentes para determinar dicho contenido en un número suficiente de muestras. Recientemente, en un trabajo de colaboración realizado entre el Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba y el Instituto de Fermentaciones Industriales (CSIC, Madrid) se procedió a la puesta a punto de un método para realizar el análisis cuantitativo de las fracciones caseínicas αs_1 y α_{s2}.

El objetivo de este trabajo es presentar los resultados obtenidos con este método sobre el efecto del polimorfismo del gen CSN1S1 sobre los contenidos de caseínas α_{s1} y α_{s2} en la leche de las razas caprinas Malagueña y Murciano-Granadina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de leche de cabras pertenecientes a tres ganaderías de la Asociación Española de Criadores de la Cabra Malagueña y de ocho pertenecientes a la Asociación de Criadores de la Raza Murciano-Granadina, cuyos genotipos para el gen CSN1S1 habían sido previamente establecidos con la técnica descrita por Amills (1996). En cada una de las muestras se determinó el contenido de grasa (método Gerber), proteína (método Kjeldahl), caseína total (diferencia entre proteína total y proteína en suero) y extracto seco total (desecación en estufa). De cada animal se registraron la raza, el rebaño al que pertenecía, la edad, la fecha y el tipo (número de cabritos nacidos) de parto, el mes de la lactación en el que fue tomada la muestra y la producción de leche de ese día (solamente en el caso de la raza Malagueña). La caseína, precipitada y liofilizada, se analizó por electroforesis capilar, siguiendo el método puesto a punto en Instituto de Fermentaciones Industriales (Gómez y cols. 2003) para determinar el contenido de las caseínas α_{s1}- y α_{s2}. El procedimiento empleado para dicho análisis se basó en el método descrito por de Jong y col., (1993) y posteriormente optimizado por Recio y Olieman (1996) para la separación de las proteínas lácteas.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el procedimiento GLM (Modelo Lineal General) del software estadístico SAS (SAS, 1992). En primer lugar se utilizó un modelo jerárquico los factores raza y rebaño subordinado a raza, para comprobar si existían diferencias significativas entre las razas. En segundo lugar, para cada una de las razas por separado, se consideró un modelo con todos los demás factores; rebaño, año-estación de parto, edad (para la Malagueña) y edad-lactación (para la Murciano Granadina), nº de mes de lactación en que se tomó de muestra, el genotipo del gen CSN1S1 y la interacción entre esto dos últimos factores. En tercer lugar, se utilizaron modelos con los factores que resultaron significativos en el análisis anterior (el nº de mes de la lactación en el que se tomó la muestra, el genotipo y la interacción entre estos dos factores, para la raza Malagueña, y estos mismos factores más el factor edad para la raza Murciano-granadina).

Las variables consideradas fueron el contenido de proteína, el de caseína total, el de caseína α_{s1} y el de caseína α_{s2}.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias significativas entre las dos razas para los valores medios de contenido de caseínas totales, de caseína α_{s1} y de caseína α_{s2}, por lo que se decidió realizar los análisis por separado para cada una de ellas.

La tabla 1 muestra los valores correspondientes a las medias aritméticas de la variable caseína α_{s1}, que es la única para la que el efecto del genotipo resultó significativo.

La interacción entre el número del mes de la lactación en el que se tomó la muestra y el genotipo resultó ser significativa para ambas razas, pero la comparación de las medias de los distintos genotipos intra-nivel del factor número de mes permitió comprobar que aunque cambiaran las magnitudes de unas clases a otras no cambiaba el orden relativo de los genotipos.

Tabla 1. Valores de las medias aritméticas y mínimo cuadráticas de la variable caseína α_{s1}

	MALAGUEÑA			MURCIANO-GRANADINA		
Genotipo CSN1S1	Media aritmética	Media mínimo cuadrática	Nº Observ.	Media aritmética	Media Mínimo Cuadrática	Nº Observ.
BB	$7.66^{a}\pm1.67$	$7.23^{a}\pm0.64$	4	$10.56^{a}\pm0.84$	$10.56^{a}\pm0.52$	23
BF	$4.78^{b}\pm0.49$	$4.73^{b}\pm0.34$	15	-	-	-
EE	$3.46^{c}\pm0.23$	$3.49^{c}\pm0.20$	40	$5.37^{b}\pm$	$5.37^{b}\pm0.31$	65
FF	$2.19^{d}\pm0.35$	$2.40^{d}\pm0.45$	8	-	-	-

Por último, en la tabla 2 vemos una comparación de los valores encontrados en diferentes trabajos para el efecto estimado de los alelos del gen de la caseína α_{s1}. Podemos concluir que dichos valores no difieren de los estimados en este trabajo para la raza Malagueña. Sin embargo, los valores estimados para la raza Murciano-granadina son superiores a los demás, si bien se mantiene la magnitud y el signo de la diferencia entre los genotipos altos y medios.

Tabla 2.- Comparación de los efectos alélicos estimados en diferentes trabajos.

Alelo	Alpina[1]	Alpina[2]	Malagueña[3]	Malagueña[4]	Murciana[5]
A/B	3.6	3.5	3.7	3.8	5.4
E	1.6	1.1	2.5	1.7	-
F	0.6	0.45	2.0	1.1	2.7

[1]Grosclaude et al (1987). (Datos en g/l).
[2]Grosclaude y Martín (1997). (Datos en g/l).
[3]Analla et al. 2000. (Datos en g/l).
[4] y [5] Datos de este trabajo (g/Kg).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amills, M. 1996; Tesis doctoral. UAB.
Analla M., Angulo-Heras C., Serradilla J.M. (2000). EAAP Publication nº. 94 Wageningen Pers pp. 247-250.
Angulo C., Amills M., Ares J.L., Jiménez I., Jordana J., Sánchez A., Serradilla J.M. (1996). 45th Annual Meeting of EAAP. Abstracts. Pp. 209.
De Jong, N., Visser, S., Olieman, C. (1993). *J. Chromatogr. A,*. 652, 207-213.
Díaz Carrillo, E. Tesis Doctoral. 1993.
Díaz E., Angulo-Heras C. , Jordana J., Amills M., Sánchez A., Serradilla J.M. (1994). 45th Annual Meeting of EAAP. Abstracts. Pp. 296.
Gómez J.A., Agüera P., Amigo L., Serradilla J.M. (2003). ITEA, en prensa.
Grosclaude F., Mahé M.F., Brignon G., Di Stasio L., Juenet R. (1987). Genet. Sel. Evol. 19: 399-412
Grosclaude F., Martin P. (1997). Proceedings of the FIL-IDL Seminar. Pp. 241-253
Recio, I., Olieman, C. (1996). 17, 1228-1233.
Remeuf, F (1993). Lait, 73: 499-51.
Ricordeau, G, Manfredi, E, Amigues Y. (2000). Proceedings 7th Inter. Conference on goats. Tours, France, pp. 249-251.
Sánchez A., Angulo C., Amills M., Ares J.L., Serradilla J.M. (1998). Proc 6th WCGALP 24: 242-245.
SAS,1992. SAS/STAT. User`s guide.4th ed., ver.6. SAS, Cary, USA

DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO DEL LOCUS *PRNP* EN EL GANADO OVINO MEDIANTE "*PRIMER EXTENSION*"*

L. Álvarez, J.J. Arranz y F. San Primitivo.
Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León

INTRODUCCIÓN

Las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET) son un grupo de enfermedades degenerativas que afectan al sistema nervioso central y que han creado una importante alarma social, al existir evidencias epidemiológicas de su transmisión desde la especia bovina al hombre, mediante la ingestión de material infectado (variante de la enfermedad de Creutzeldt-Jakob). En las especies ovina y caprina estos procesos están representados, fundamentalmente, por el *scrapie* o tembladera que hasta hace unos pocos años no había recibido especial atención.

Las EET están asociadas con el cambio post-traduccional de una proteína del hospedador (PrP) a una conformación alterada o prión (PrP^{sc}), actuando esta última como mediador en dicha transformación y siendo considerada el agente infectivo (Prusiner, 1998). En diversas especies, como el hombre, el ratón y la oveja, se ha detectado una diferente susceptibilidad de determinados hospedadores a padecer las EET. Esta susceptibilidad genética, está principalmente determinada por polimorfismos en el gen *PRNP* que codifica para la proteína PrP. En el caso del ganado ovino se ha detectado una asociación entre el polimorfismo de 3 codones 136, 154 y 171 y un diferente riesgo al padecimiento de la tembladera. Así, los animales que presentan los aminoácidos Alanina, Arginina y Arginina (ARR) para los tres codones indicados, respectivamente, se consideran animales resistentes al padecimiento de la enfermedad (Hunter, 1997).

En función de estos conocimientos, recientemente la Unión Europea ha fijado una serie de normas referentes al genotipado de las razas puras para el gen PRNP (decisión 2002/1003/CE) y la implantación de una serie de programas de cría de ovinos y caprinos resistentes a las EET (decisión 2003/100/CE). Estas normas condicionan de una forma clara los programas de selección establecidos en el ganado ovino, ya que priorizan la resistencia a la tembladera como criterio fundamental en la elección de reproductores. Como resultado de las mencionadas decisiones, y teniendo en cuenta que nuestro grupo de investigación dirige técnicamente el programa de selección de las razas Churra y Castellana, nos hemos propuesto, como objetivo de este trabajo, la puesta a punto de un método rápido y fiable para la determinación del genotipo en los codones 136, 154 y 171, en el ganado ovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

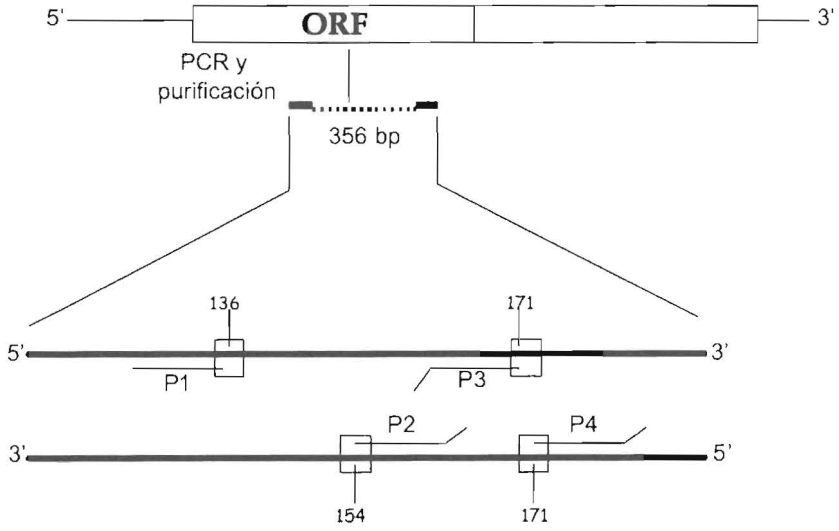
Para la verificación del método de diagnóstico genotípico, se ha analizado un grupo de 72 animales de diversas razas ovinas.

El proceso de genotipado se basa en la técnica denominada "*primer extension analysis*" (Syvanen, 1999; Sauer et al., 2000) y que explicamos brevemente a continuación.

* Trabajo financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto LE43/02)

A partir de la secuencia del gen *PRNP* de la oveja (Nº acceso GeneBank U67922) se han diseñado dos *primers* que amplifican un fragmento de 356 bp del exón III (entre las bases 353 y 708 de la región ORF) (Ver Figura 1).
Una vez amplificado el fragmento, se incuba con fosfatasa alcalina y exonucleasa III con el fin de eliminar el exceso de *primers* y nucleótidos de la reacción. A continuación, se realiza la reacción de *"primer extension"* para la que se emplean cuatro *primers*, cada uno de ellos específico de uno de los SNP relacionados con la resistencia a la tembladera. Con el fin de facilitar el proceso de genotipado, dos de los *primers* se han diseñado complementarios de la cadena directa (SNP del codón 136 y primer SNP del codón 171) y otros dos de la cadena reversa (SNP del codón 154 y segundo SNP del codón 171). El diseño de los *primers* del codón 154 y los dos del 171 se ha basado en la adición de diferentes colas de nucleótidos, con objeto de obtener productos con distinto tamaño.
La reacción de extensión de los *primers* se lleva a cabo utilizando el kit *"SNaPshot Multiplex"* de Applied Biosystems. Los productos resultantes se purifican con fosfatasa alcalina y a continuación se realiza la separación electroforética en un secuenciador automático ABIPrism 377 y la identificación de los genotipos mediante el software GeneScan®.
La verificación del método de genotipado se efectuó mediante secuenciación doble de 2-3 animales de cada uno de los genotipos detectados, empleando secuenciación cíclica del producto de 356 bp.

Figura 1: Esquema del procedimiento de genotipado en los codones 136, 154 y 171 del gen *PRNP* ovino



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se pueden observar algunos de los patrones obtenidos en el proceso de secuenciación. Podemos ver que existen 4 regiones perfectamente diferenciadas en cuanto al tamaño del producto de electroforesis.

- En la región de los 20 bp se resuelve el genotipo del SNP del codón 136 pudiendo diferenciar entre la presencia de una citosina (triplete G**C**C) que codifica el aminoácido Alanina (A), o bien una timina (triplete G**T**C) correspondiente a la Valina (V).

- En la zona de 30 pares de bases diferenciamos la existencia de un triplete GCA, complementario de C**G**T y correspondiente al aminoácido Arginina (R) o bien GTA, complementario de C**A**T y correspondiente a Histidina (H).
- En la región de 35 bp se diferencian los animales que codifican para Arginina (R) en el aminoácido 171 de la proteína (triplete C**G**G) y los que no codifican para Arginina que son portadores del triplete C**A**K.
- La región de 40 bp diferencia dentro del grupo que no codifica para Arginina, a los portadores del triplete CAG, que determina una Glutamina (Q) o CAT y los que llevan una Histidina (H) en el aminoácido 171.

El método descrito es sencillo y rápido ya que, en una sola reacción, es capaz de discriminar los 4 SNPs relacionados con la resistencia a la tembladera en el ganado ovino. El alto rendimiento laboratorial que se puede alcanzar con esta técnica, permite hacer factible la introducción del genotipo del gen PRNP para los codones 136, 154 y 171 como uno de los criterios complementarios en los programas de selección establecidos en las distintas razas del ganado ovino.

Por lo que respecta a la fiabilidad del método, en la Tabla 1 podemos observar la coincidencia entre el genotipo definido mediante el método "*primer extension*" y la secuencia encontrada en los codones analizados. En los 3 animales secuenciados para cada uno de los 10 genotipos identificados, existe un 100% de coincidencia entre el genotipo identificado y la secuencia correspondiente a cada uno de los alelos. El método propuesto presenta, por lo tanto, una elevada fiabilidad.

Figura 2: Diferenciación de algunos de los genotipos para los codones 136, 154 y 171 del gen PRNP en el ganado ovino.

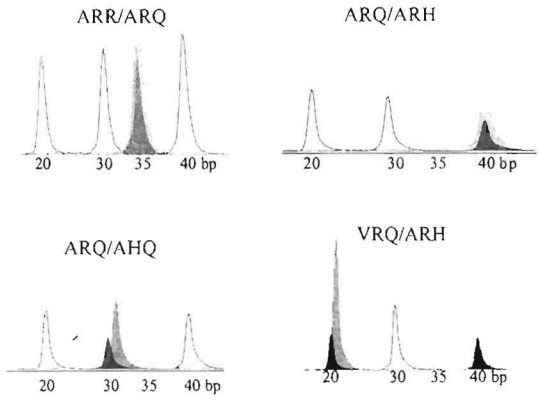


Tabla 1. Secuencia identificada en los alelos de los 30 animales secuenciados

Alelo	Codón 136	Codón 154	Codón 171
ARQ	GCC	CGT	CAG
ARH	GCC	CGT	CAT
ARR	GCC	CGT	CGG
AHQ	GCC	CAT	CAG
VRQ	GTC	CGT	CAG

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dawson M, Hoinville, B, Hosie BD, Hunter N. (1998). Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical scrapie. Vet. Rec., 142: 623-625.

Hunter N. (1997). Molecular biology and genetics of scrapie in sheep. En: The genetics of sheep. Ed. L Piper y A. Ruvinsky. Cab International.

Prusiner SB. (1998). Prions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 117: 421-434.

Saber S, Lechner D, Berlin K, Lehrach H, Escary JL, Fox N, Gut IG. (2000). A novel procedure for efficient genotyping of single nucleotide polymorphisms. Nucleic Acids Res., 28: E13.

Syvanen AC. (1999). From gels to chips: "minisequencing" primer extension analysis of point mutations and single nucleotide polymorphisms. Hum. Mutat., 13: 1-10.

SECUENCIA NUCLEOTÍDICA Y POLIMORFISMO DEL GEN DE LA 2,4-DIENOIL-COA REDUCTASA (*DECR*) PORCINA

Marcel Amills[1], Oriol Vidal[1], Luis Varona[2], Anna Tomàs[1], Armand Sànchez[1]

[1] Unitat de Ciència Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193.
[2] Area de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198.

INTRODUCCIÓN

El enzima 2,4-dienoil-CoA reductasa (DECR) participa en el proceso de β-oxidación de los ácidos grasos polinsaturados catalizando la reducción dependiente de NADPH del *trans*-2-*cis*-4-dienoil CoA en 3-enoil-CoA, que posteriormente es convertido en *trans*-2-enoil-CoA por la Δ^3-Δ^2–enoil-CoA-isomerasa (Kunau y Dommes 1978). La DECR es un homotetrámero constituido por subunidades de 30 kDa que ejerce su función a nivel mitocondrial y que se expresa en diversos tejidos como riñón, hígado, corazón y páncreas (Koivuranta et al. 1994). En humano, el gen *DECR* ha sido secuenciado completamente y mapeado en el cromosoma 8q21.3 (Helander et al. 1997). En un trabajo previo, nuestro grupo mapeó el gen *DECR* porcino cerca del centrómero del cromosoma 4 e identificó un polimorfismo G/C en el exón 2 (Clop et al. 2002). El objetivo principal del presente trabajo ha consistido en secuenciar el cDNA del gen *DECR* porcino con la finalidad de hallar nuevos polimorfismos que puedan ser de interés en la realización de estudios de asociación con caracteres productivos.

MATERIAL Y METODOS

Amplificación del cDNA DECR porcino: Se realizaron extracciones de RNA a partir de muestras de hígado correspondientes a 10 individuos de las razas Pietrain, Large White, Landrace, Vietnamita e Ibérica. Las muestras de tejidos se congelaron en nitrógeno líquido, fueron pulverizadas con un mortero y homogenizadas. Posteriormente, el RNA total se purificó mediante el preparado *Trizol reagent* (Gibco BRL, Life Technologies). La síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el kit *ThermoScript RT-PCR System kit* (Invitrogen S.A.) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los oligonucleótidos empleados en la reacción de amplificación fueron ENOIL-EXO2-5; 5'- AGT TTT TCA GTT ATG GGA CAA AAA-3', DECR-3-CDNA; 5'-GAA CCT TTT GTC TTC CTG ATG AG-3'. Las condiciones de la reacción de PCR fueron 1.5 mM $MgCl_2$, 100 μM dNTPs, 0.5 μM de cada *primer*, 2-3 μl de reacción de transcripción reversa y 1.25 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 20 μl. El perfil térmico fue de 94 ºC-1 min, 63 ºC-2 min, 72 ºC-3 min durante 35 ciclos.

Secuenciación del producto amplificado: El producto amplificado se secuenció mediante el *kit* de secuenciacion *ABI PRISM Cycle sequencing kit* (Perkin Elmer Biosystems). Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar *ABI PRISM 310* (Perkin Elmer Biosystems). Para secuenciar el cDNA *DECR* se emplearon los primers

ENOIL-EXO2-5, DECR-3-CDNA, ENOIL-EX3-3; 5'-ATT AGG ATG TCC TGC AAC TTT GAT C-3' y DECR-FW-EX5; 5'-GTG ATA AAC AAT GCA GCA GG-3'.

Genotipado del polimorfismo G/C del exón 2: El exón 2 del gen DECR se amplificó mediante los oligonucleótidos ENOIL-EXO2-5 y ENOIL-EXO2-3; 5'-CAC TGA GCA CCT AGG CTG GA-3'. La composición de la PCR fue 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTP, 0.5 µM de cada oligonucleótido, 30 ng de DNA genómico y 0.5 U de Taq DNA polimerasa en un volumen final de 25 µl. El perfil térmico consistió en 1 ciclo a 94 °C-1.5 min, 35 ciclos a 94 °C-1.5 min, 58 °C-2 min y 72 °C-2.5 min y un ciclo final de extensión a 72 °C-20 min. El producto amplificado fue purificado mediante el kit *ExoSAP-IT kit* (Amersham Biosciences Europe GmbH) y la mutación fue genotipada mediante el kit *SnaPshot™ ddNTP Primer Extension kit* (Applied Biosystems). La secuencia del oligonucleótido usado en la reacción de extensión fue: SNAP2-DECR; 5'– CCA CCA AAT ACT TTT CAA GGA AAA–3'.

Genotipado del polimorfismo G/C del exón 5: La secuencia de los oligonucleótidos empleados para amplificar el exón 5 fueron DECR-FW-EX5 y DECR-REV-EX5; 5'-CTT TCT GTG CTT TAA TTA GTT GC-3'. La composición de la PCR fue 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTP, 0.5 µM de cada oligonucleótido, 60 ng de DNA genómico y 0.75 U de Taq DNA polimerasa en un volumen final de 30 µl. El perfil térmico consistió en 30 ciclos a 94 °C-1 min, 61 °C-1 min y 72 °C-1 min. El producto amplificado fue purificado y genotipado de la forma anteriormente descrita. La secuencia del oligonucleótido usado en la reacción de extensión fue: SNAP5-DECR; 5'–CAT TAG GAG AGA GTC TTT CA–3'. Las frecuencias alélicas de este polimorfismo se analizaron en una muestra de 48 cerdos pertenecientes a las razas Meishan (n = 10), Large White (n = 9), Pietrain (n = 10), Ibérico (n = 10) y cerdo Canario (n = 9).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se amplificó un fragmento de 937 pb correspondiente a la mayor parte del cDNA del gen *DECR* porcino mediante dos oligonucleótidos situados en los exones 2 y 10. Dicho fragmento fue secuenciado en ambas direcciones en diez individuos de distintas razas porcinas. El alineamiento de dichas secuencias mediante el programa Multalin (Corpet et al. 1988) permitió obtener una secuencia consenso (número de acceso Genbank = AY233130) que fue comparada mediante el programa Blastn con las secuencias de genes ortólogos en otras especies. La secuencia parcial del cDNA *DECR* porcino presentó una similitud nucleotídica del 89% y 83% con sus ortólogos humano y murino, respectivamente. El alineamiento de las distintas secuencias permitió confirmar la existencia de un polimorfismo G/C en el exón 2 previamente descrito por Clop et al. (2002). Dicho polimorfismo está asociado a una sustitución aminoacídica Val/Leu en la posición 61. Asimismo, se identificó un segundo polimorfismo G/C en el exón 5 asociado a una sustitución Ser/Thr en la posición 153. Se observó la existencia de dos haplotipos G (exón 2) – G (exón 5) y C (exón 2) – C (exón 5).

La localización cromosómica del gen *DECR* porcino coincide con la de un QTL para espesor del tocino dorsal y porcentaje de ácido oleico y linoleico descrito previamente por Pérez Enciso et al. (2000). Esta característica unida al hecho de que el enzima *DECR* juega un papel crucial en la β-oxidación de

ácidos grasos polinsaturados evidencia el interés de determinar si existen asociaciones entre alguno de los polimorfismos observados y caracteres relacionados con la deposición grasa. Con dicha finalidad, se han optimizado métodos de genotipado para ambas mutaciones basados en la técnica de *primer-extension analysis*. Mediante esta técnica, se han determinado las frecuencias alélicas del polimorfismo del exón 2 (Clop et al. 2002) y del exón 5 (ver Tabla 1) y se está llevando a cabo el genotipado de una población Landrace de 546 individuos para los que se dispone de medidas de calidad de la canal y de la carne.

Tabla 1. Frecuencias alélicas del polimorfismo G (Ser_{153}) / C (Thr_{153}) en el exón 5 del gen *DECR*.

Raza	N	Ser_{153}	Thr_{153}
Large White	9	0.50	0.50
Pietrain	10	0.70	0.30
Meishan	10	1.00	0.00
Ibérico	10	0.85	0.15
Landrace	73	0.73	0.27
Cerdo canario	9	0.94	0.06

AGRADECIMIENTOS

Gracias a J. Capote, CIA "El Dehesón del Encinar", COPAGA y Nova Genètica por ceder las muestras de sangre y tejidos utilizadas en este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Clop, A., A. Cercós, A. Tomás, M. Pérez-Enciso, L. Varona, J.L. Noguera, A. Sánchez, M. Amills. 2002. Assignment of the 2,4-dienoyl-CoA reductase (DECR) gene to porcine chromosome 4. Anim Genet. 33: 164-5.

Corpet, F. 1988. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. Nucleic Acids Res. 16: 10881-90.

Helander, H. M., K.T. Koivuranta, N. Horelli-Koitunen, J.J. Palvimo, A. Palotie, y J.K. Hiltunen. 1997. Molecular cloning and characterization of the human mitochondrial 2,4-dienoyl-CoA reductase gene (DECR). Genomics 46: 112-119.

Koivuranta, K.T., E.H. Hakkola, y J.K. Hiltunen. 1994. Isolation and characterization of cDNA for human 120 kDa mitochondrial 2,4-dienoyl-coenzyme A reductase. Biochem J. 304:787-92.

Kunau, W.H., y P. Dommes. 1978. Degradation of unsaturated fatty acids.Identification of intermediates in the degradation of cis-4-decenoyl-CoA by extracts of beef liver mitochondria. Eur. J. Biochem. 91: 533-544.

Pérez-Enciso, M., A. Clop, J.L Noguera, C. Ovilo, A. Coll, J.M. Folch, D. Babot, J. Estany, M.A. Oliver, I. Díaz y A. Sanchez. 2000. A QTL on pig chromosome 4 affects fatty acid metabolism: evidence from an Iberian by Landrace intercross. J Anim Sci. 78: 2525-31.

LA DISRUPCIÓN DEL GEN DE LA PLC-β1 EN UNA LÍNEA DE RATONES TRANSGÉNICOS PARA LA βLG CAPRINA AFECTA A SU CRECIMIENTO Y FERTILIDAD

Maria Ballester, Elena Ibáñez*, Josep Santaló*, Armand Sánchez y Josep M Folch
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària y
*Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Facultat de Ciències,
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

INTRODUCCIÓN

Se estima que entre un 5-10% de los ratones fundadores creados por microinyección de ADN presentan mutaciones producidas por la inserción del transgén (Palmiter y Brinster 1986).

En nuestro grupo, se obtuvieron mediante microinyección, un total de 10 líneas de ratones transgénicos para el gen de la β-Lactoglobulina caprina (βLG) con el fin de analizar el efecto del tamaño del promotor sobre la expresión del transgén (Pena *et al.*, 2001). Ocho de las líneas expresaron el transgén a niveles elevados, con independencia del lugar de integración y dependiendo del número de copias integradas del mismo. Los animales fundadores fueron normales y fértiles, pero al obtenerse la F2, los ratones homocigotos de la línea Tg56 presentaron un fenotipo conspicuo, que se caracterizó por: un tamaño y peso inferior al de sus hermanos transgénicos heterocigotos debido a un crecimiento retardado, una elevada mortalidad después del nacimiento y una reducción de la fertilidad. Esta línea contiene 22 copias del transgén integradas en una única posición del genoma y expresa la βLG caprina a niveles elevados en la glándula mamaria.

En el presente estudio se ha caracterizado el lugar de integración del transgén de la βLG caprina en la línea de ratones transgénicos Tg56 para determinar si el fenotipo presentado por estos animales se debe a la disrupción de un gen endógeno del ratón. Las 22 copias del transgén se encuentran integradas en un intrón del gen Fosfolipasa C-β1 (PLC-β1) del ratón. Este gen juega un papel muy importante en las vías de traducción de las señales transmembranales ya que cataliza la hidrólisis del fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato dando lugar a segundos mensajeros intracelulares (Bahk *et al.*,1994).

MATERIAL Y MÉTODOS

Ratones transgénicos:

Los ratones transgénicos fueron previamente generados por microinyección de la construcción pPX(7.0). Dicha construcción contenía, además de la unidad de transcripción de la β-LG caprina, 410 pb de región promotora proximal y 1,9 Kb de región 3' flanqueante.

La línea de ratones transgénicos Tg56 se mantiene mediante el cruce de animales heterocigotos entre sí debido a la baja fertilidad de los ratones homocigotos.

Caracterización del lugar de integración del transgén:

Se realizó una hibridación in situ fluorescente (*FISH*) sobre linfocitos, usando el transgén como sonda, para localizar el lugar de inserción del transgén. Posteriormente, se utilizó la técnica *Vectorette* (Genosys), basada en una Anchored

PCR, para secuenciar e identificar el ADN genómico adyacente al lugar de integración del mismo. Se realizó una comparación de secuencias con la base de datos del GenBank para identificar el lugar de integración del transgén, finalizando su caracterización mediante amplificación por PCR, clonación y secuenciación.

Aislamiento y análisis del ARN:

El ARN se extrajo de diferentes tejidos (hígado, pulmón, bazo, corazón, riñón, médula espinal, cerebro, útero, vesícula seminal, testículo y músculo) de ratones transgénicos y ratones normales siguiendo las instrucciones del producto comercial Trizol (Invitrogen).

Para la síntesis del ADNc a partir de ARN se utilizó el Kit *ThermoScript RT-PCR System* (Invitrogen) siguiendo sus instrucciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización del lugar de integración del transgén.

Mediante la técnica FISH se determinó la localización cromosómica del transgén, el cual estaba insertado en la banda citogenética G1 del cromosoma 2 del ratón.

La secuenciación de una de las bandas obtenidas mediante la técnica Vectorette permitió identificar con precisión la posición del transgén en el genoma del ratón, observándose que estaba integrado en el gen PLC-β1. Debido a que en el ratón sólo se conoce el mRNA de la PLC-β1, se extrapoló la estructura del gen humano y se dedujo que el transgén se había integrado en el intrón 30 de este gen (figura 1). Con cebadores específicos, se amplificaron y secuenciaron las regiones 5' y 3' flanqueantes al transgén, observándose una pérdida de 30 nucleótidos en el intrón 30 del gen PLC-β1 del ratón.

En 1997, Kim *et al.* obtuvieron un ratón knockout para el gen PLC-β1con el fin de investigar el papel que jugaba dicho gen en el cerebro, donde se expresa de forma abundante. Los ratones heterocigotos eran normales y fértiles mientras que los homocigotos presentaban un crecimiento retardado y una viabilidad baja después del nacimiento. Muchos de estos ratones morían repentinamente a partir de la tercera semana de vida y su muerte venía precedida por ataques epilépticos. Este grupo observó que la PLC-β1era esencial para el funcionamiento normal del circuito inhibitorio neuronal, al acoplarse con los receptores acetilcolina muscarínicos.

Los ratones transgénicos analizados en el presente trabajo pueden ser utilizados como un modelo de disrupción del gen PLC-β1. Cuando comparamos el fenotipo de nuestros ratones con los ratones knockout generados por Kim *et al.* (1997) observamos que a pesar de tener un crecimiento retardado, la viabilidad después del nacimiento no se ve tan afectada y no se han observado ataques epilépticos antes de morir. Esto podría ser explicado por una cierta funcionalidad del gen PLC-β1 en los ratones de la línea Tg56.

Estudio de la expresión del transgén en los animales homocigotos.

A partir de 1 μg de ARN extraído del cerebro y mediante la técnica RT-PCR, se caracterizó el ARNm de la PLC-β1 en la línea de ratones transgénicos Tg56. Se escogió el cerebro debido a la elevada expresión del gen PLC-β1 en este tejido (Bahk *et al.*,1994; Watanabe *et al.*,1998). La secuenciación de un fragmento de 657 pb mostró que se estaba transcribiendo un ARNm híbrido entre el gen de la PLC-β1

y el de la βLG (figura 1). Posteriormente, se amplificaron y secuenciaron más fragmentos de este ARNm para verificar su integridad, concluyendo que este ARNm híbrido contenía el gen truncado PLC-β1del ratón (del exón 1 al 30) unido a los 7 exones del gen de la βLG caprina (incluyendo la señal de poliadenilación) y una cola de poli A.

A continuación se realizó el análisis de expresión de este ARNm en otros tejidos, mostrándose la existencia de un ARNm híbrido en todos los tejidos analizados.

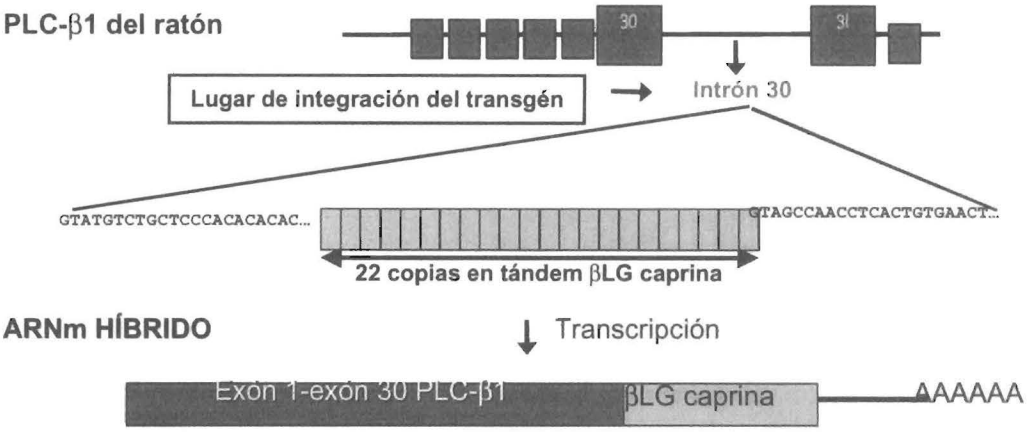


Figura 1: Lugar de integración de las 22 copias de la βLG caprina en la línea Tg56 de ratones transgénicos y caracterización de un mensajero híbrido entre el gen de la PLC-β1 del ratón y el gen de la βLG caprina.

Para acabar de verificar la hipótesis de una cierta funcionalidad del gen de la PLC-β1 en la línea de ratones transgénicos Tg56, se están realizando estudios sobre la expresión de la proteína híbrida en estos animales, mediante la técnica Western.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Pena, R.N., Ibáñez, E., Folch, J.M., Vidal, F., Sánchez, A. y Santaló, J. (2001) Transgenics, 3:175-182.

Palmiter, R.D., Brinster, R.L. (1986) Annu. Rev. Genet. 78: 263-266.

Bahk, Y.Y., Lee, Y.H., Lee, T.G., Seo, J., Ryu, S.H., y Suh, P-G. (1994) J. Biol. Chemistry, 269:8240-8245.

Kim, D., Jun, K.S., Lee, S.B., Kang, N-G., Min, D.S., Kim, Y-H., Ryu, S.H., Suh, P-G., y Shin H-S. (1997) Nature, 389: 290-293.

Watanabe, M., Nakamura, M., Sato, K., Kano, M., Simon, M.I., y Inoue, Y. (1998) Eur. J. Neurosci. 10: 2016-2025.

Trabajo financiado con el proyecto CICYT (AGF99/1232-CO-O2) y con beca F.I. a Maria Ballester (DGU, Generalitat de Catalunya).

ESTIMACIÓN DEL TIEMPO DESDE LA DIVERGENCIA DE ASCENDIENTES DE CERDOS ASIÁTICOS Y EUROPEOS BASADA EN ADN MITOCONDRIAL

Estefanía Alves, Cristina Óvilo, Carmen Rodríguez y Luis Silió
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid.

INTRODUCCION

El genoma mitocondrial (mtADN) es haploide, de herencia casi exclusivamente maternal y sin recombinación entre sus genes. La identificación de polimorfismos de mtADN presenta aplicaciones en la caracterización del origen genético de poblaciones animales que no permiten los genes nucleares. Así se han identificado haplotipos de mtADN en cerdos, característicos de los procesos independientes de domesticación en Asia y Europa. La presencia de haplotipos asiáticos en la mayoría de las razas europeas ha confirmado la contribución de cerdos importados de China e Indochina al desarrollo de algunas razas británicas (Giuffra et al., 2000, Kim et al., 2002) así como su difusión posterior a otras razas. Se ha sugerido que es necesario un más amplio muestreo de poblaciones de cerdos y jabalíes para obtener un conocimiento mas preciso de la filogenia del cerdo doméstico (Kijas & Andersson, 2001). En el presente estudio se utilizan secuencias de las regiones D-loop y Citocromo B (Cyt B) para obtener estimas del tiempo de divergencia entre los ascendientes comunes a los actuales cerdos europeos y asiáticos a partir de una amplia colección de datos propios y otros disponibles en la base de datos GenBank.

MATERIAL y METODOS

Razas y líneas. Una parte de las secuencias empleadas en el presente trabajo corresponden a cerdos domésticos de razas Duroc, Large White, Landrace y Berkshire, otras locales (Yucatán y Welsh) y a un amplio número de razas chinas (Meishan, Erhualian, Jinghua y otras) y japonesas (Okinawa, Satsuma) así como a jabalíes asiáticos. Las secuencias D-loop se encuentran disponibles en las accesiones de GenBank con números AF276921-AF276937, D16483 y D17739 (Kim et al., 2002) y AB15085-AB15086, AB15091-AB15093 (Watanobe et al., 1999). En cuanto a las secuencias Cyt B, ya analizadas por Giuffra et al. (2000), corresponden a las accesiones de Genbank AB15067, AB15069-AB15072, AB15074-AB15075, AB15077, AB15079-AB15080, AF136541-AF136548 y AF136550-AF136554. El resto de las secuencias utilizadas se han determinado por nuestro grupo en muestras de 51 cerdos, distribuidas de la siguiente forma: 26 Ibéricos, siete jabalíes capturados en España, 15 cerdos domésticos de las razas de difusión universal Duroc, Large White, Landrace, Pietrain y Meishan y uno de cada una de las razas locales Manchado de Jabugo, Vasco y Mangalitza (Alves et al., 2003).

Secuenciación de mtDNA. Los protocolos de amplificación mediante PCR de la región D-loop y del gen Cyt B han sido anteriormente descritos (Alves et al., 2003). Las correspondientes secuencias se han remitido al GenBank con números AY232842 a AY232892 (D-loop) y AY237484 a AY237534

(Cyt B). La información utilizada en el análisis filogenético incluye el gen Cyt B completo (1,140 pb) y 635 pb de la región D-loop correspondientes a los dominios ETAS (318 pb) y central (317 pb), según la denominación de Sbisà et al. (1997).

Análisis de datos. Para cada una de las regiones secuenciadas (D-loop y Cyt B) se calcularon las matrices de distancias entre haplotipos utilizando el algoritmo de distancia *p*, que proporciona una estima precisa para valores pequeños de la divergencia de secuencias. Un arbol filogenético NJ fue construido sobre la base de cada una de estas matrices de distancias, calculándose la confianza de cada nudo mediante 1000 réplicas bootstrap. Las estimas de la divergencia de secuencias entre haplotipos asiáticos y europeos (*K*) se calcularon mediante el algoritmo de distancia *p* para el dominio ETAS de la región D-loop (Sbisà et al., 1997) y para las sustituciones de nucleótidos sinónimas y no sinónimas en el gen Cyt B (Pesole et al., 1999). Los valores del tiempo de divergencia (*T*) se obtuvieron a partir de la ecuación $T = K/2r$ (Li, 1997), donde *r* es la tasa de sustitución de nucleótidos, que ha sido determinada para diferentes regiones funcionales de los genomas mitocondriales de mamíferos por Pesole et al. (1999).

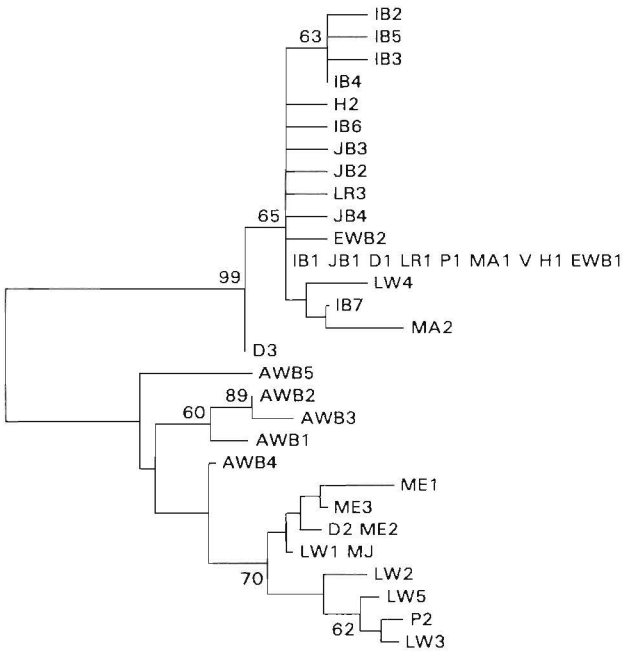


Figura 1. Arbol filogenético construido mediante el algoritmo NJ a partir de 29 secuencias distintas de Citocromo B (16 haplotipos Europeos y 13 Asiáticos) determinadas en cerdos domésticos y jabalíes. Los valores de bootstrap superiores al 60% se indican en los nudos. Clave de abreviaturas: AWB = Jabalí Asiático; D = Duroc; EWB = Jabalí Europeo; H = Hampshire; IB = Ibérico; LR = Landrace; LW = Large White; MA = Mangalitza; ME = Meishan; MJ = Manchado de Jabugo; P = Pietrain; V = Cerdo Vasco

RESULTADOS y DISCUSION

Los árboles filogenéticos construidos a partir de las secuencias analizadas de las regiones D-loop y Cyt B presentan dos grupos estadísticamente diferenciados (valor bootstrap del 99% en ambos casos). En la Figura 1 se representa la topología obtenida en el árbol basado en 29 diferentes haplotipos Cyt B. El grupo Europeo incluye 16 haplotipos, con todos los

cerdos Ibéricos, los jabalíes españoles y europeos y varias de las secuencias identificadas en razas de difusión universal (Duroc, Hampshire, Landrace, Large White y Pietrain) y local (Mangalitza y Cerdo Vasco). El grupo Asiático incluye 13 haplotipos identificados en cerdos Meishan, jabalíes asiáticos e individuos de razas Large White, Pietrain y Duroc, así como de la raza local Manchado de Jabugo. El dendrograma basado en los 39 haplotipos identificados a partir de las secuencias D-loop (no presentado) es muy similar. Además de las ya citadas, el grupo europeo (19 haplotipos) incluye a las razas locales Yucatán y Welsh y el asiático (20 haplotipos) a la raza Berkshire y a la totalidad de razas chinas y japonesas, así como a los jabalíes asiáticos.

Debido a que la tasa de mutación (*r*) depende de la región mitocondrial considerada (Pesole et al., 1999), la divergencia de secuencias entre haplotipos asiáticos y europeos (*K*) se estimó para el dominio ETAS de la región D-loop y para las sustituciones de nucleótidos sinónimas y no sinónimas en el gen Cyt B. Se descartó la estima basada en el dominio central de la región D-loop, por estar sujeta a un gran error muestral (Sbisà et al., 1997). Los valores estimados de la distancia neta entre grupos, expresados como porcentajes, se presentan en la siguiente tabla.

Región mtADN	*r* (%)	*K* ± SE (%)	*T* (10^3 años)
Citocromo B			
Posiciones sinónimas	27,4 ± 3,3	3,08 ± 0,90	563
Posiciones no sinónimas	1,8 ± 0,3	0,15 ± 0,12	403
D-loop			
Dominio ETAS	19,4 ± 7,8	2,48 ± 0,80	638

Nuestros resultados indican un tiempo de divergencia hasta el presente de alrededor de 550.000 años. Kijas & Andersson (2001) estimaron este período en 900.000 años, a partir de la secuencia completa del mtADN de un único individuo de cada grupo. Sin embargo, las distancias genéticas netas calculadas en el presente análisis tienen en cuenta la diversidad intragrupo lo que explicaría el menor tiempo de divergencia estimado.

REFERENCIAS

Alves et al., 2003. Enviado a *Animal Genetics*.

Giuffra et al., 2000. *Genetics* 154: 1785-1791.

Kijas J.M.H. & Andersson L., 2001. *Journal of Molecular Evolution* 52: 302-308.

Kim et al., 2002. *Animal Genetics* 33: 19-25.

Pesole et al., 1999. *Journal of Molecular Evolution* 48: 427-434.

Sbisà et al., 1997. *Gene* 205: 125-140.

Watanobe et al., 1999. *Molecular Ecology* 8: 1509-1512.

BIODIVERSIDAD DE RAZAS DE GALLINAS BASADA EN MICROSATÉLITES. RESULTADOS DEL PROYECTO AVIANDIV CON DOS RAZAS ESPAÑOLAS

J. L. Campo y M. G. Gil
Departamento de Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

Desde Darwin se ha aceptado que todas las razas de gallinas proceden del Red Jungle Fowl originario del sudeste de Asia (Crawford, 1990: *Poultry Breeding and Genetics*, Elsevier). Durante más de 8.000 años de domesticación, y en particular durante los últimos 200 años, se ha originado gran cantidad de diversidad genética en esta especie. Esta diversidad puede ser descrita a varios niveles, desde el fenotípico hasta el molecular. Alrededor de 2.000 marcadores a nivel DNA han sido descritos en gallinas (Groenen y col., 2000: Genome Res. 10, 137-147), y muchos de ellos ya han sido mapeados, cubriendo casi el 95% del genoma con un intervalo medio entre marcadores menor que 20 cM. Los más usados en estudios de diversidad son los microsatélites, compuestos de unidades repetidas de una a seis bases y con longitud variable (Tautz, 1989: Nucl. Acids Res. 17, 6463-6471). Estas variaciones en longitud son las que definen los alelos de un microsatélite determinado, y todos son altamente polimórficos. El objetivo general del proyecto AVIANDIV era estimar la variación genética entre y dentro de 43 razas de gallinas y evaluar diversas cuestiones relacionadas con la estimación de la diversidad. En el proyecto, coordinado por S. Weigend, han intervenido 8 grupos y 14 subgrupos de investigación de diversos países europeos, entre ellos el Departamento de Genética del INIA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las razas analizadas se indican en la Tabla 1 así como el tipo de las mismas. El Tipo 1 incluye dos poblaciones de Red Jungle Fowl (*Gallus gallus*) capturadas en Tailandia. El Tipo 2 incluye cuatro poblaciones que no han sido seleccionadas para ningún carácter. El Tipo 3 incluye 19 razas seleccionadas para caracteres morfológicos. El Tipo 4 incluye 18 líneas seleccionadas para caracteres productivos. Se tomaron muestras de sangre de 50 animales de cada raza y se prepararon 43 "pools" de DNA (Croojimans y col., 1996: Poult. Sci. 75, 904-909) con dichas muestras que se genotiparon para 22 microsatélites repartidos por todo el genoma. El genotipado se realizó en el laboratorio de M. Groenen en Wageningen.

Una estima de la heterocigosis (H) se calculó para cada locus y para cada raza, asumiendo equilibrio Hardy-Weinberg para los genotipos de los j allelos de cada locus. Para el locus i: $H_i = 1 - \Sigma(p_j)^2$, donde p_j son las frecuencias alélicas observadas. Se calcularon tres estimas de la distancia genética usando los datos de frecuencias alélicas. La distancia genética de Nei (Nei, 1972: Am. Nat. 106, 283-292) es: $-\ln [\Sigma\Sigma p_{1mi}p_{2mi}/(\Sigma\Sigma p^2_{1mi})^{0.5}(\Sigma\Sigma p^2_{2mi})^{0.5}]$, donde p_{1mi} y p_{2mi} son las frecuencias del alelo i en el locus m de las razas 1 y 2, respectivamente. La distancia de Reynolds (Reynolds y col., 1983: Genetics 105, 767-779) es: $\Sigma\Sigma(p_{1mi} - p_{2mi})^2/2\Sigma(1 - \Sigma p_{1mi}p_{2mi})$. La distancia de Cavalli-Sforza (Cavalli-Sforza y Edwards, 1967: Am. J. Hum. Genet. 19, 233-257) es: $4\Sigma(1 - \Sigma p_{1mi}^{0.5}\, \Sigma p_{2mi}^{0.5})/\Sigma(a_m - 1)$, donde a_m es el número de alelos en el locus m. En las tres

estimas, la divergencia entre razas es debida a deriva. Para cada raza se calculó la distancia genética media con todas las restantes (μ), así como la desviación típica correspondiente (σ). Un valor bajo de μ para una raza indica que la mayoría de las restantes están cerca de ella.

TABLA 1. Lista de poblaciones, con número de identificación, y tipo de las mismas

Población	Tipo	Población	Tipo	Población	Tipo
Gallus gallus [41]	1	Fayoumi [1]	3	Bresse [8]	4
Gallus gallus [42]	1	Westfalia [3]	3	Godollo [26]	4
Beduina [2]	2	Sundheimer [4]	3	Sarcoma+ [43]	4
Islandesa [11]	2	Leghorn [5]	3	Sarcoma- [44]	4
Finesa [12]	2	Uilenbaarder [6]	3	Huevo blanco [27]	4
Yurlov [24]	2	Frisona [7]	3	Huevo marrón [28]	4
		Houdan [9]	3	Huevo marrón [33]	4
		Marans [10]	3	Huevo marrón [34]	4
		Escandinava [13]	3	Huevo marrón [35]	4
		Jaerhoens [14]	3	Australorp [36]	4
		Siciliana [15]	3	Broiler dam [29]	4
		Padua [16]	3	Broiler sire [30]	4
		Castellana [17]	3	Broiler dam [31]	4
		Villafranquina [18]	3	Broiler sire [32]	4
		Checa [19]	3	Broiler dam [37]	4
		Oravka [20]	3	Inmune+ [38]	4
		Transilvania [21]	3	Inmune- [39]	4
		Pata verde [22]	3	Control [40]	4
		Orlov [23]	3		

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Tablas 2 y 3 se indican las tres distancias genéticas para las dos razas españolas incluidas en el estudio (Castellana Negra y Villafranquina Roja). La heterocigosis media fue 51% y 0,46%, respectivamente, mientras que la frecuencia de marcadores polimórficos fue 91% en ambas razas. Las distancias genéticas medias para la raza Castellana Negra fueron 0.49, 0.26 y 0.10, con desviaciones típicas de 0.10, 0.04 y 0.01. Las distancias genéticas medias para la raza Villafranquina Roja fueron 0.50, 0.28 y 0.11, con desviaciones típicas de 0.12, 0.05 y 0.01.

Como comparación, la población menos variable (Padua) tenía H = 18% y la más variable (*Gallus gallus*) tenía H = 61%. La raza de Tipo 3 con mayor heterocigosis (Orlov) tenía H = 55%. El nivel medio de heterocigosis a través de todos los loci y de todas las razas fue 47%, menor que el encontrado en vacas (60%; de Gortari y col., 1997: Anim. Gen. 28, 274-290), cerdos (68%; Groenen y col., 1995: Anim. Gen. 26, 115-118), y peces (86%; García de León y col., 1995: Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 4, 62-68). El número medio de alelos en todos los loci y en todas las razas fue 10.1 mientras que el número medio de alelos por locus y raza fue 3.8. El nivel de polimorfismo fue elevado, con un valor medio de 92%. La distancia genética entre la Castellana y la población comercial de huevo blanco[27] era elevada (0.64, 0.35 y 0.14), igual que la distancia entre la Villafranquina Roja y la población comercial de huevo

marrón oscuro[35] (0.82, 0.38 y 0.15). En relación con la subespecie *Gallus gallus gallus*[42], la distancia genética de las dos razas era alta (0.70, 0.27, 0.12 y 0.74, 0.30, 0.13, respectivamente). Por lo tanto, ambas razas españolas son potencialmente importantes y su inclusión en programas de conservación parece justificada.

TABLA 2. Distancias genéticas entre la raza Castellana Negra[17] y las restantes

Raza	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		0.60	0.52	0.30	0.45	0.43	0.56	0.32	0.48	0.32
		0.32	0.23	0.20	0.25	0.27	0.27	0.22	0.24	0.21
		0.13	0.10	0.07	0.10	0.10	0.11	0.08	0.10	0.07
1	0.60	0.41	0.46	0.35	0.33	0.54	0.48		0.33	0.49
	0.28	0.22	0.21	0.21	0.25	0.29	0.37		0.21	0.26
	0.12	0.08	0.09	0.09	0.08	0.10	0.13		0.08	0.11
2	0.37	0.57	0.30	0.54	0.51		0.43	0.64	0.57	0.47
	0.20	0.30	0.17	0.25	0.22		0.20	0.35	0.28	0.21
	0.08	0.11	0.08	0.11	0.09		0.08	0.14	0.11	0.09
3	0.41	0.52	0.55	0.52	0.61	0.64	0.46	0.43	0.49	0.30
	0.21	0.26	0.26	0.27	0.31	0.32	0.28	0.21	0.26	0.19
	0.09	0.10	0.11	0.11	0.11	0.12	0.10	0.09	0.10	0.07
4	0.52	0.61	0.70	0.51	0.57					
	0.26	0.24	0.27	0.31	0.32					
	0.10	0.10	0.12	0.10	0.12					

TABLA 3. Distancias genéticas entre la raza Villafranquina Roja[18] y las restantes

Raza	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		0.57	0.67	0.31	0.57	0.32	0.60	0.37	0.50	0.25
		0.33	0.28	0.21	0.30	0.24	0.30	0.25	0.26	0.19
		0.12	0.11	0.08	0.12	0.08	0.13	0.09	0.11	0.07
1	0.49	0.40	0.48	0.30	0.59	0.45	0.59	0.33		0.34
	0.26	0.24	0.24	0.20	0.36	0.28	0.43	0.21		0.22
	0.10	0.09	0.10	0.07	0.13	0.09	0.14	0.08		0.09
2	0.47	0.54	0.55	0.36	0.33		0.51	0.53	0.68	0.54
	0.25	0.30	0.28	0.21	0.18		0.24	0.34	0.33	0.25
	0.10	0.11	0.11	0.08	0.08		0.10	0.12	0.13	0.11
3	0.45	0.51	0.63	0.51	0.60	0.82	0.47	0.49	0.49	0.47
	0.24	0.27	0.30	0.29	0.32	0.38	0.30	0.24	0.28	0.27
	0.10	0.11	0.13	0.11	0.12	0.15	0.11	0.10	0.10	0.10
4	0.46	0.48	0.74	0.63	0.62					
	0.26	0.23	0.30	0.36	0.35					
	0.10	0.10	0.13	0.13	0.13					

APLICACIÓN DEL ANÁLISIS DE *CLUSTERS* GENÉTICOS A LA ASIGNACIÓN DE INDIVIDUOS A POBLACIONES PORCINAS

Estela Fabuel, Carmen Barragán, Luis Silió y Miguel Toro
Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Madrid.

INTRODUCCIÓN

El análisis de *clusters* genéticos, que a partir de los genotipos de múltiples loci permite identificar individuos relacionados, ha sido recientemente propuesto como una técnica alternativa a las distancias genéticas para inferir la estructura de poblaciones animales y asignar individuos a las mismas (Pritchard et al., 2000; Dawson & Belkhir, 2001). Rosenberg et al. (2001) trabajando con datos genotípicos de 20 razas y líneas de gallinas europeas han mostrado la utilidad de este método en la definición de unidades de conservación. En el presente trabajo, a partir de genotipos de individuos adscritos a las principales variedades y estirpes de cerdo Ibérico y de la raza Duroc, se analiza la correspondencia entre poblaciones predefinidas de acuerdo con criterios fenotípicos y geográficos y los *clusters* genéticos inferidos mediante esta técnica.

MATERIAL y METODOS

Poblaciones. Dos de las poblaciones analizadas (Guadyerbas y Torbiscal) pertenecen al programa de conservación que se mantiene en la piara experimental de 'El Dehesón del Encinar' (Rodrigañez et al. 2000, Toro et al. 2000). Los tres restantes grupos de cerdos Ibéricos representan las tres principales variedades actuales: Negro Lampiño, Retinto y Entrepelado. Se obtuvieron muestras de 173 animales (77 verracos y 96 cerdas) inscritos en el Libro Genealógico de la raza, con la distribución siguiente: 31 Torbiscal, 32 Guadyerbas, 50 Retinto, 30 Entrepelado y 30 Lampiño. Debido a su relación histórica y actual con el cerdo Ibérico fueron asimismo analizados otros 40 animales Duroc.

Microsatélites. Todos los animales se genotiparon para 36 microsatélites, elegidos por su reproducibilidad, posición, polimorfismo y ausencia de alelos nulos. Los microsatélites, amplificados por PCR, fueron analizados en un equipo de electroforesis capilar con detección por fluorescencia (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer) y para optimizar la determinación del tamaño de los alelos, en todos los geles se genotiparon cuatro animales control.

Análisis estadístico. La construcción de *clusters* genéticos se realizó mediante el algoritmo *structure* de Pritchard et al. (2000) que estima la fracción del genotipo de cada individuo que pertenece a cada *cluster* en ausencia de cualquier información previa sobre la estructura de la población. En consecuencia, los individuos son asignados (probabilísticamente) a una población, o a varias si sus genotipos indican que son mestizos. El

algoritmo se resolvió mediante un procedimiento Bayesiano empleando cadenas Markov y métodos Montecarlo. El número de iteraciones fue de 11000 de las que se descartaron las 1000 primeras.

RESULTADOS Y DISCUSION

El número medio de alelos por microsatélite fue 7,2 en los cerdos Ibéricos (rango: 4 a 14) y 5,4 en los Duroc (rango: 2 a 10). La heterocigosidad media observada fue 0,567 en ibérico y 0,549 en Duroc, mientras la heterocigosidad esperada bajo equilibrio de Hardy-Weinberg presentó valores más elevados: 0,697 y 0,648 respectivamente.

El algoritmo *structure* fue aplicado inicialmente a la clasificación de los genotipos de los 213 cerdos analizados en dos *clusters*. Los resultados indican que la mayoría de los genotipos de las cinco variedades y estirpes de cerdo Ibérico se agrupan en un mismo cluster y los genomas de los animales de raza Duroc lo hacen en el otro (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción de miembros de cada población predefinida (estirpe, variedad o raza) asignada a cada uno de dos posibles *clusters* a partir de los genotipos de 36 microsatélites por individuo

	Cluster	
Población	*1*	*2*
Torbiscal	0,001	0,999
Guadyerbas	0,001	0,999
Retinto	0,011	0,989
Entrepelado	0,050	0,950
Lampiño	0,010	0,990
Duroc	0,997	0,003

Hay una coincidencia casi perfecta con las dos razas, siendo las estirpes Guadyerbas y Torbiscal quienes se diferencian con menor incertidumbre de la raza Duroc. Precisamente, cualquier introgresión de Duroc en estas estirpes es absolutamente descartable ya que se mantienen genéticamente aisladas con un registro genealógico completo que se remonta hasta el año 1944, mucho antes de la primera importación a España de cerdos Duroc-Jersey que tuvo lugar en 1962.

Cuando el algoritmo *structure* se aplicó exclusivamente a los 173 individuos de raza Ibérica, asumiendo un mismo número de *clusters* y de subpoblaciones (cinco), se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Proporción de miembros de cada variedad o estirpe de cerdos Ibéricos asignada a cada uno de los cinco posibles *clusters* a partir de los genotipos de 36 microsatélites por individuo

	Cluster				
Población	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*
Torbiscal	0,985	0,006	0,003	0,004	0.002
Guadyerbas	0,002	0,994	0,001	0,001	0.001
Retinto	0,084	0,007	0,451	0,449	0.009
Entrepelado	0,030	0,016	0,420	0,527	0.008
Lampiño	0,024	0,081	0,223	0,322	0,351

Estos resultados indican que un 98,6% de los genotipos Torbiscal y un 99,5% de los Guadyerbas fueron clasificados como dos *clusters* separados. Sin embargo, los resultados son menos claros para las otras subpoblaciones en las que una proporción variable puede atribuirse a diversos *clusters*. Las dos primeras estirpes constituyen poblaciones genéticamente mejor definidas que las tres variedades actualmente descritas en la población de cerdos Ibéricos. Estas últimas se definen exclusivamente por las características morfológicas de color de capa y pelo análogas a las que identificaban a las variedades tradicionales. Sin embargo, durante la recuperación del censo registrada en la última década ha tenido lugar un importante flujo genético entre ellas, como han acreditado estudios de secuencias de ADN mitocondrial (Alves et al., 2002) y como se verifica en el presente trabajo.

REFERENCIAS

Alves et al. (2002) Mitochondrial DNA sequence variation and phlylogenetic relationships of Iberian pigs and other domestic and wild pig populations Enviado a *Animal Genetics*.

Dawson KJ, Belkhir K (2001) A bayesian approach to the identification of panmictic populations and the assignment of individuals. *Genet Res* 78: 59-73.

Pritchard et al. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945-959.

Rodrigáñez et al. (2000) Alleles survival from Portuguese and Spanish strains in a population of Iberian pig. In: Afonso JA, Tirapicos JL (eds) *Tradition and innovation in Mediterranean pig production*, CIHEAM/ICAM-UE: Zaragoza, pp 57-61.

Rosenberg et al. (2001) Empirical evaluation of genetic clustering methods using multilocus genotypes from 20 chicken breeds. *Genetics* 159: 699-713.

Toro et al. (2000) Genealogical analysis of a closed herd of black hairless Iberian pigs. *Conserv Biol* 14: 1843-1851.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 498-500

TRAZABILIDAD DEL ORIGEN GENÉTICO DE CERDOS IBÉRICOS Y CRUZADOS CON DUROC

A. Fernández, E. Alves, C. Óvilo, C. Rodríguez y L. Silió
Dpto. Mejora Genética Animal. SGIT-INIA. Madrid. España

INTRODUCCIÓN

La identificación del origen genético de la materia prima es un elemento de creciente importancia en el necesario control de calidad de productos alimentarios. Este problema es especialmente importante en productos de alta cotización como los elaborados a partir de cerdo ibérico. En la reciente normativa de calidad se contempla el origen racial, discriminando entre genotipos puros y cruzados (principalmente con la raza Duroc) con el fin de posibilitar la defensa del acervo genético de la raza frente a los riesgos de introgresión de genes de razas foráneas, además del interés en la claridad del etiquetado por parte de consumidores, productores y distribuidores.

En la actualidad los controles utilizados para la identificación de animales, canales y piezas se basan exclusivamente en sistemas de soporte físico, sin embargo la experiencia previa de autentificación de otros productos de alta calidad hace aconsejable disponer además de técnicas analíticas de autentificación que permita su uso para la verificación de la fiabilidad del sistema de trazabilidad adoptado y en situaciones litigiosas. Actualmente están siendo utilizadas técnicas basadas en el la reacción en cadena de la polimerasa (microsatélites, RAPDs, AFLPs) para la identificación de especies y razas porcinas (Óvilo et al., 2000; Alves et al., 2002).

En los últimos años se ha desarrollado el conocimiento del genoma porcino de modo que el problema del origen racial puede abordarse con nuevos enfoques metodológicos basados en el análisis de la secuencia de algunos genes. En este sentido los genes que determinan el color de la capa se han considerado idóneos para abordar el problema de la diferenciación entre Ibérico y Duroc ya que el carácter color de la capa ha sido usado tradicionalmente para la definición de razas y poblaciones porcinas. El gen *MC1R* ha sido estudiado previamente (Kijas et al., 1998, 2001; Giuffra et al., 2000) en la especie porcina detectándose la presencia de seis alelos asociados con patrones de color característicos de las razas analizadas. El gen *Pink* codifica para otra proteína implicada en el proceso de regulación de biosíntesis de pigmentos en humano (Kerr et al., 2000).

El objetivo del presente trabajo fue identificar polimorfismos candidatos a marcadores raciales en los genes *MC1R* y *Pink* y realizar un estudio de la diversidad alélica de los mismos en poblaciones de cerdo ibérico y Duroc con el fin de establecer un panel de marcadores que permitiesen la exclusión del origen ibérico a partir de muestras procedentes de animales vivos, carnes o productos elaborados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó analizando la secuencia de los dos genes a través de secuenciación directa de los fragmentos de ambos genes amplificados por PCR (Fernández, tesis doctoral) en animales pertenecientes a las razas Ibérica (seis animales) y Duroc (dos animales) y alineando la secuencias obtenidas con el fin de detectar las posibles posiciones polimórficas.

Los posiciones polimórficas detectadas y que aparecían en una de las dos razas y estaban ausentes en la otra fueron genotipadas en un mayor número de muestras (219 animales ibéricos y 104 animales pertenecientes a la raza Duroc) y 14 animales pertenecientes a la población Manchado de Jabugo empleando la metodología de PCR-RFLP (Fernández, tesis doctoral).

Los mismos protocolos de genotipado fueron aplicados a muestras pertenecientes a animales cruzados Ibérico x Duroc al 50% y a muestras procedentes de productos elaborados, jamón curado, extraidas empleando el kit de purificación de ADN "PUREGENE: DNA Isolation Cell and Tissue" (GENTRA), confirmando la validez del protocolo para la determinación de la presencia de los alelos Duroc.

La utilidad de un marcador genético para la discriminación del origen racial puede medirse por la probabilidad de exclusión del origen ibérico, que es proporcional a la frecuencia alélica del marcador en la población intrusa (Duroc), de manera que la probabilidad de exclusión se puede representar como $P_E(IB)= 2kg_i$, siendo k la proporción de genes Duroc en los animales cruzados (½ o ¼) y g_i la frecuencia de alélica del marcador en la población intrusa. La probabilidad de aceptar por error una muestra como procedente de un animal ibérico puro es $1-P_{E(1)}$. Con un número total de N marcadores la probabilidad de error conjunta es $\prod_{i=1}^{N}(1-P_{E(i)})$, y la probabilidad conjunta de exclusión del origen ibérico es: $P_{EC}=1-\prod_{i=1}^{N}(1-P_{E(i)})$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del alineamiento de las secuencias nucleotídicas de los genes analizados permitieron detectar dos polimorfismos candidatos a marcadores raciales en Duroc frente a Ibérico, estos fueron dos SNPs localizados en las posiciones 1556 del gen *MC1R* (transversión G/A, mutación que constituye el haplotipo *MC1R**4) y 2462 del ADN copia del gen *Pink* (transversión G/A).

Los resultados del genotipado a gran escala a través de PCR-RFLP (*BstU* I y *Aci* I, respectivamente) de ambos polimorfismos aparecen representados en las tablas 1 y 2.

Tabla 1: Frecuencias alélicas para el gen *MC1R*

	Poblaciones de la raza Ibérica			Manchado	
Alelos	Negros (31)	Colorados (109)	Entrepelados (79)	de Jabugo (14)	Duroc (104)
MC1R*1	--	--	--	--	--
MC1R*3	1.000	0.037	0.070	0.036	--
MC1R*4	--	--	--	**0.071**	**1.000**
MC1R*6	--	0.626	0.560	0.857	--
MC1R*7	--	0.307	0.390	0.036	--

Tabla 2: Frecuencias alélicas para el gen *Pink*

	Poblaciones de la raza Ibérica			Manchado	
Alelos	Negros (31)	Colorados (109)	Entrepelados (79)	de Jabugo (5)	Duroc (104)
G	1.000	1.000	1.000	0.700	0.245
A	--	--	--	**0.300**	**0.755**

Como se muestra en las tablas anteriores, ambos polimorfismos quedan establecidos como marcadores raciales para la raza Duroc ya que aparecen, o bien fijados, como es el caso del alelo *MC1R**4, o bien a elevada frecuencia, como es el caso del alelo A del gen *Pink*, en la población Duroc, mientras que ambos están ausentes en las diversas poblaciones de animales ibéricos.

Otro hecho a destacar es que tanto para el gen *MC1R* como para el *Pink* se detecta la presencia en la población Manchado de Jabugo de alelos pertenecientes a la población Duroc, lo que indica que en la recuperación de la misma debió de participar algún animal con ascendencia Duroc.

La probabilidad de exclusión empleando únicamente el marcador del gen *MC1R* en animales cruzados un 50% es del 100%. Por otro lado, en la tabla 3 se indican las probabilidades de exclusión conjunta del origen ibérico para animales cruzados un 25% Ibérico x Duroc. Además, en esta tabla se incluyen las probabilidades de exclusión incorporando marcadores moleculares de tipo AFLP (Alves et al., 2002).

Tabla 3: Cálculo de la probabilidad de exclusión conjunta del origen ibérico puro utilizando diversos marcadores diagnóstico, para un número de muestras de 1, 2, 3, 4 y 5 de animales vivos o productos con un 25% de genes Duroc

Número de muestras analizadas	25% genes Duroc				
Marcadores	1	2	3	4	5
MC1R + *Pink*	0.693	0.906	0.971	0.991	0.998
MC1R + *Pink* + 9AFLP	0.933	0.996	0.999	1.000	1.000

Como se muestra en la tabla anterior, para excluir una única muestra portadora de un 25% de genes Duroc con una probabilidad aceptable (0.933) es preciso emplear los tres tipos de marcadores, los polimorfismos de ambos genes (*MC1R* y *Pink*) junto con los nueve marcadores tipo AFLPs.

Sin embargo, el problema real que se suele plantear es una situación en la que se debe confirmar en una partida de animales o productos la pureza ibérica de los mismos. En este caso bastaría simplemente con utilizar, para animales o muestras portadoras de un 25% de genes Duroc, ambos genes para el color en un lote de muestras superior a dos, para permitir prácticamente excluir (0.971) este lote de muestras del origen ibérico puro.

Por otro lado, el empleo de los SNPs detectados en los genes *MC1R* y *Pink* presenta una clara ventaja frente a los marcadores de tipo microsatélite y AFLP, debido a su sencillez de genotipado, mediante PCR-RFLP, lo que hace mas sencillo y económico su uso en el diagnóstico de exclusión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves E., Castellanos C., Óvilo C., Silió L. & Rodríguez M.C.(2002). Differentiation of the raw of the iberian pig meta industry based on the use of amplified fragment length polymorphism. Meat Science 61, 157-162.
- Giuffra E., Kijas J.M.H., Amarger V., Carlborg Ö., Jeon J.T. & Andersson L. (2000). The origin of the domestic pig: Independent domestication and subsequence introgression. Mamm. Genome 10, 1132-1136.
- Fernández A.I. (2003). Estudio de la base genética del color de la capa y aplicaciones prácticas en porcino. Tesis doctoral.
- Kerr R., Stevens G., Manga P., Salm S., John P., Haw T. & Ramsay M.(2000). Identification of the P gene mutations in individuals with oculocutaneous albinism in sub-Saharan Africa. Hum. Mut. 15, 166-172.
- Kijas J.M.H., Moller M., Plastow G. & Andersson L.(2001). A frameshift mutation in MC1R and high frequency of somatic reversions cause black spotting in pigs. Genetics 158, 779-785.
- Kijas J.H.M., Wales R., Törnsten A., Chardon P., Moller M. & Andersson L. (1998). Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs. Genetics 150, 1177-1185.
- Óvilo C., Cervera M.T. Castellanos C. & Martínez Zapater. (2000). Characterization of Iberian pig genotype using AFLP markers. Anim. Genet. 31, 117-122.

GENOTIPADO DEL LOCUS EXTENSION (Mc1r) EN CINCO RAZAS BOVINAS ESPAÑOLAS DE CAPA CASTAÑA

L.J. Royo[1], I. Álvarez[1], A.J. Luque[2], I. Fernández[1], S. de Argüello[3], A. Molina[4] M. Robles[5] y F. Goyache[1*]

[1]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); [2]Asociación Nacional de Criadores de Raza Pajuna, Partido Rural de Sigüela s/n, Apto. 159, 29400 Ronda, (Málaga); [3]CENSYRA, Sierrapando s/n, 39300-Torrelavega (Cantabria); [4]Departamento de Genética de la Universidad de Córdoba, Ctra. Madrid-Córdoba, km. 373a., 14071-Córdoba; [5]Asociación Nacional de Criadores de Raza Parda Alpina, Avda. de la Facultad de Veterinaria, 24193, León; *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

Las mutaciones en el *locus Extension* o Mc1r (receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos) son responsables de diferentes fenotipos de coloración. Los alelos dominantes para el *locus Extension* incrementan el tipo de pigmentación de tipo *eumelánico*; y al contrario, alelos recesivos que bloquean el efecto de la eumelanina, favorecen la producción de pigmentación *phaeomelánica* o roja. El locus Extension se localiza en el cromosoma 18 bovino, y se conoce la secuencia completa de su ADN codificante (Sec. BDF3, VANETTI et al., 1994; KLUNGLAND et al., 1995). La zona codificante completa del gen Mc1r bovino está contenida en un solo exón y consta de 948 pb. (VANETTI et al., 1994).

En bovinos se han identificado diversos alelos de este gen, en animales de diferentes razas europeas (KLUNGLAND et al., 1995; JOERG et al., 1996; GRAPHODATSKAYA et al., 2000; ROUZAUD et al., 2000; KRIEGESMANN et al., 2001):

- E^+: alelo salvaje, propio de las razas de capa castaña, que permite la expresión del *locus Agouti*. La coloración de los animales homocigotos para este alelo depende del locus Agouti.
- E^D (L99P): alelo dominante que conduce a una coloración negra, propia del ganado Frisón negro. Es una mutación que implica que el receptor esté constantemente activado, provocando la formación de eumelanina y, por lo tanto, color negro dominante.
- **e** (310delG): alelo recesivo rojo, propio de razas rubias. Es una mutación en el receptor que lo mantiene constantemente inactivo, provocando la formación de phaeomelanina, y por lo tanto responsable del color rojo recesivo. Se han descrito algunos polimorfismos en este alelo que acompañan a la mutación causal dando lugar a diversos haplotipos (KRIEGESMANN et al., 2001).
- E^1 (ARGI218-219ins): alelo causante del fenotipo de las capas castañas claras, también descrito en Pardo Alpina.
- E^2 (R223W): alelo que se ha encontrado en la raza Pardo Alpina, sin asociación a ningún fenotipo.

El objetivo de la presente comunicación es realizar un genotipado preliminar de los alelos del *locus Extension* descritos en la bibliografía en 5 razas bovinas españolas

de capa castaña en el marco del proyecto PC-REC01-01, financiado por el III Plan Regional de I+D+I del Gobierno del Principado de Asturias, y de los proyectos RZ00-008 y RZ02-007 financiados por el MCyT-INIA dentro de la Acción Especial de Conservación de Recursos Genéticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han genotipado para el locus Extension animales no emparentados de 5 razas bovinas españolas de capa castaña: 62 animales de raza Asturiana de los Valles, 36 de raza Asturiana de la Montaña, 30 de raza Pajuna, 18 de raza Parda Alpina y 31 de raza Tudanca. Estos animales fueron genotipados para la presencia de los alelos $\mathbf{E^+}$, $\mathbf{E^1}$, $\mathbf{E^2}$ y **e**, mediante los protocolos de PCR-RFLP descritos por GRAPHODATSKAYA et al. (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se exponen los resultados del genotipado. El alelo más frecuente en todas las razas, excepto la Parda Alpina, es el $\mathbf{E^2}$, con frecuencias que oscilan entre el 50% en raza Pajuna y el 92% en raza Tudanca. En la Parda Alpina el alelo más frecuente es el salvaje (72%). Este alelo es el segundo más frecuente en raza Pajuna (40%) y se encuentra representado en aproximadamente un 10% en las tres razas castañas cantábricas. En las dos razas asturianas y la Pajuna se encuentra el alelo recesivo **e** en baja frecuencia.

El genotipo más frecuente en las razas cantábricas es el homocigoto $\mathbf{E^2}$ oscilando entre el 52% para la raza Asturiana de los Valles y el 90% para la raza Tudanca. Los homocigotos $\mathbf{E^2}$ sólo se presentan en un 16% en la raza Pajuna, donde el genotipo más frecuente es el heterocigoto de este alelo con el alelo salvaje (53%). En la raza Parda Alpina el genotipo más frecuente es el homocigoto salvaje (50%), seguido del heterocigoto del alelo salvaje con el alelo $\mathbf{E^1}$. El alelo recesivo **e** sólo se presenta en heterocigosis.

Los resultados obtenidos contrastan con los obtenidos por ROUZAUD et al. (2000) en razas francesas. Estos autores no encuentran en su trabajo el alelo $\mathbf{E^2}$ que es el más frecuente en las razas castañas españolas. Esto llama la atención, ya que algunas de las razas genotipadas por esos autores, como las Aubrac o la Gasconne se consideran emparentadas con las razas bovinas cantábricas españolas y presentan fenotipos similares a las razas asturianas. Además, aunque otros grupos han descrito la presencia del alelo $\mathbf{E^2}$ en la raza Parda Alpina (GRAPHODATSKAYA et al., 2000), nosotros no hemos encontrado ese alelo en ninguno de los 18 animales genotipados de esa raza.

Cabe destacar la elevada frecuencia del alelo $\mathbf{E^2}$ y del genotipo $\mathbf{E^2/E^2}$ fundamentalmente en la raza Tudanca (y en menor medida en la Asturiana de la Montaña), lo que hace pensar en un posible efecto fundador en estas razas o en un funcionamiento diferente de los libros genealógicos.

La variabilidad de frecuencias y distribución de los alelos del *locus Extension*, puede hacer pensar en la importancia del uso de este tipo de marcadores en estudios de diversidad (KLUNGLAND et al., 2000). Sería necesario proceder al genotipado de

una muestra representativa de animales de otras razas de capa castaña de la península ibérica y otros países de la cuenca mediterránea, para intentar explicar el origen de este alelo y su importancia en las relaciones histórico-geografías de las razas castañas ibéricas.

A pesar de la variabilidad alélica encontrada dentro de animales de capa castaña, no somos capaces de explicar ni las variaciones de tonalidad de color ni los patrones de distribución de pelos negros y rojos existentes en esta capa teniendo en cuenta únicamente el *locus Extension*. En otras palabras, no es posible, por el momento, asignar un fenotipo diferente a los alelos E^+, E^1 y E^2 dentro de los animales de capa castaña.

Tabla 1: Número de individuos y frecuencias alélicas y genotípicas (en porcentaje) para el *locus Extension* en cinco razas bovinas españolas de capa castaña

Razas		Frecuencias alélicas				Frecuencias Genotípicas							
	N	E^+	E^1	E^2	e	E^+/E^+	E^+/E^1	E^+/E^2	E^1/E^2	E^2/E^2	e/E^+	e/E^1	e/E^2
Asturiana de los Valles	62	12,9	12,9	70,2	4,0	3,2	4,8	13,0	19,4	51,6	1,6	1,6	4,8
Asturiana de la Montaña	36	8,3	4,2	84,7	2,8	2,8	-	11,1	8,3	72,2	-	-	5,6
Pajuna	30	40,0	5,0	50,0	5,0	10,0	-	53,3	10,0	16,7	6,7	-	3,3
Parda Alpina	18	72,2	19,5	8,3	-	50,0	33,3	11,1	5,6	-	-	-	-
Tudanca	31	8,1	-	91,9	-	6,5	-	3,2	-	90,3	-	-	-

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GRAPHODATSKAYA D., JOERG H., STRANZINGER G.F. 2000. Polymorphism in the MSHR gene of different cattle breeds. Veterinarni-Medicina Czech 45: 290-295.

JOERG H., FRIES H.R., MEIJERINK ., STRANZINGER G.F., 1996. Red coat colour in Holstein cattle is associated with a deletion in the MSHR gene. Mammalian Genome 7: 317-318.

KLUNGLAND H.; VÅGE D.I.; GOMEZ-RAYA L.; ADALSTEINSSON S.; LIEN S., 1995. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. Mammalian Genome 6: 636-639

KLUNGLAND H., OLSEN H.G., HASSANANE M.S., MAHROUS K., VÅGE D.I., 2000, Coat colour genes in diversity studies. Journal of Animal Breeding and Genetics, 117: 217-224

KRIEGESMANN B., DIERKES B., LEEB T., JANSEN S., BRENIG, B. 2001. Two breed-specific bovine Mc1-r alleles in Brown Swiss and Salers breeds. Journal of Dairy Science, 84: 1768-1771.

ROUZAUD F.; MARTIN J.; GALLET, P.F.; DELOURME D.; GOULEMOT-LEGER V. ; AMIGUES Y.; MENISSIER F.; LEVEZIEL H.; JULIEN R.; OULMOUDEN A., 2000. A first genotyping French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (MC1R). Genetics, Selection, Evolution, 32: 511-520.

VANETTI M, SCHONROCK C, MEYERHOF W, HOLLT V. 1994. Molecular cloning of a bovine MSH receptor which is highly expressed in the testis. FEBS Lett, 348: 268-272.

PARÁMETROS GENÉTICOS DE LOS CARACTERES DE FERTILIDAD EN EL VACUNO DE LECHE

O. González Recio, M.A. Pérez-Cabal y R. Alenda
Departamento de Producción Animal - E.T.S.I. Agrónomos (UPM)

INTRODUCCIÓN

Según Petersen et al. (2002), la fertilidad es fundamental en la economía de las explotaciones lecheras y además está relacionada con el bienestar animal. El primer estudio sobre fertilidad en España fue realizado por Rekaya et al. (1996), encontrando una heredabilidad de 0,05 para los días abiertos, y una correlación genética de 0,74 de este carácter con la producción de leche, lo que indica que la selección por producción perjudica la habilidad reproductora. Los caracteres de fertilidad tienen bajas heredabilidades (<0,10). Una vez que el manejo relacionado con estos caracteres es óptimo, se debe recurrir a la selección de los animales superiores para su mejora, ya que existe una varianza genética suficiente (Sölkner y Fuerst, 2002). Actualmente en España no hay herramientas que ayuden a detectar los toros cuyas hijas tengan una fertilidad que no se adapte a su entorno de producción. Es prioritario que en los próximos años se obtengan las predicciones de los caracteres relacionados con la fertilidad de la hembra y que se incluyan en los futuros índices de selección. Países de nuestro entorno económico, como Francia, Holanda o Alemania, ya realizan valoraciones genéticas de la fertilidad y se incluyen en los objetivos de selección (Van Raden, 2002).

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis genético de los caracteres relacionados con la fertilidad de la hembra, que sirva de pauta para la creación de un futuro índice de selección por fertilidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron los datos históricos del control lechero hasta diciembre de 2002 y los registros de inseminaciones artificiales desde 1986 de las comunidades autónomas del País Vasco y Navarra. Se analizaron un total de 75.759 registros de lactaciones y 187.740 registros de inseminaciones, con 45.277 vacas con datos y 85.061 animales en la genealogía. Para considerar un registro como válido para el análisis se exigieron los siguientes requisitos, basándose en las pautas descritas por Boichard et al. (1998): la lactación en curso debía tener dato de inseminación y viceversa; la inseminación artificial, en caso de ser inferior a la sexta, debía haberse producido antes de los 340 días post parto; si existía un parto posterior a dicha lactación, se consideró como inseminación fecundante la inmediatamente anterior a los 268 días antes del parto. Además, se exigió un mínimo de 100 días en lactación y, al menos, cinco datos por grupo de comparación. Se analizaron los siguientes caracteres:

Edad al primer parto (EPP).- Edad a la que una vaca pare por primera vez. Refleja la precocidad sexual del animal, influida por su desarrollo morfológico y fisiológico.

Intervalo entre partos (IP).- Tiempo (en días) que transcurre entre dos partos consecutivos.

Número de inseminaciones (NI).- Es la cantidad de inseminaciones que una vaca requiere para quedar cubierta.

Intervalo parto-primera inseminación (IPPIA).- Indica el tiempo que transcurre desde que un animal pare hasta que se insemina por primera vez. Es

una medida del tiempo que el animal tarda en tener una actividad luteal normal y es capaz de mostrar un celo detectable por el ganadero.

Días abiertos (DA).- Mide el intervalo entre el parto y la cubrición fecundante.

Resultado de la inseminación (RIA).- Indica si la vaca se queda cubierta o no en una determinada inseminación. (No se presentan los resultados de este carácter).

El estudio de los efectos fijos se realizó mediante el procedimiento GLM (SAS, 1991). Se obtuvieron las correlaciones fenotípicas de estos análisis. La estima de los parámetros genéticos se realizó con metodología REML con el programa VCE, por el procedimiento de gradientes analíticos (Groeneveld y García Cortés, 1998) mediante análisis multicarácter, estimando los parámetros de dos en dos caracteres. Los modelos utilizados fueron:

$$EPP = \mu + RA + M_p + Animal + \varepsilon$$
$$IP = \mu + IPPIA + RA + LAE + M_p + Ef_{perm} + Animal + \varepsilon$$
$$NI = \mu + IPPIA + RA + LAE + M_p + Ef_{perm} + Animal + \varepsilon$$
$$DA = \mu + IPPIA + RA + LAE + M_p + Ef_{perm} + Animal + \varepsilon$$
$$IPPIA = \mu + RA + LAE + M_p + Ef_{perm} + Animal + \varepsilon$$

Donde: *IPPIA* es la covariable Intervalo Parto-Primera Inseminación, RA corresponde al efecto fijo Rebaño-Año de parto, M_p es el mes de parto, LAE es el efecto fijo Lactación-Edad al parto y Ef_{perm} es el efecto permanente para cada animal.

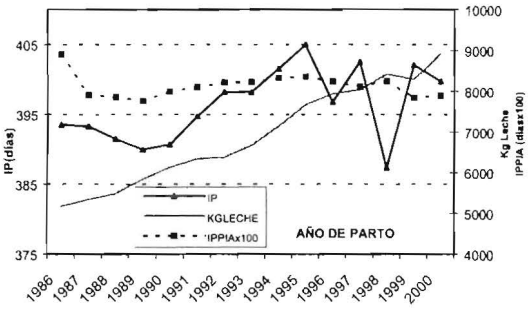
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Graficas 1 y 2 se observa el declive de la fertilidad de la hembra frente al aumento de producción. Mientras que la producción de leche ha aumentado en casi 4.000 kg en 14 años, el porcentaje de éxito a la primera IA ha pasado del 55% a ser inferior al 35%. El IP y el NI han sufrido un notable aumento mientras que el IPPIA se ha mantenido más o menos constante. Las medias obtenidas para los caracteres de estudio se muestran en la Tabla 1 junto con su desviación estándar. La Tabla 2 muestra las heredabilidades (h^2) y las correlaciones genéticas y fenotípicas de los caracteres estudiados. Se estimó una h^2 de 0,19 para EPP, la cual es similar a la encontrada por Jansen (1996). Este carácter tiene una correlación genética prácticamente nula con el resto, indicando que la edad al primer parto no incide sobre la fertilidad futura. IP, NI, DA e IPPIA tienen h^2 comprendidas entre 0,03 y 0,04. Estos valores concuerdan con los encontrados por otros autores en trabajos similares: Brotherstone et al. (2002) estimaron una h^2 de 0,04 para el IP y de 0,03 para el NI. Pryce et al. (1997) encontraron una h^2 de 0,03 para el IP y para los días a la primera inseminación. También fue similar el valor estimado de 0,04 para los DA por Veerkamp et al. (2001). Se pueden observar correlaciones genéticas muy altas entre IP, NI y DA. El IPPIA está moderadamente correlacionado con el IP y los DA, pero no con el NI, cuya relación genética es practicamente nula. Por tanto, un índice de selección por fertilidad podría incluir tres caracteres: IPPIA, el IP o DA, que podría considerarse el mismo carácter, y el NI o el resultado de la inseminación.

Es necesario hacer un esfuerzo para recuperar la habilidad reproductiva del vacuno de leche, tanto para un mayor beneficio económico para el ganadero como para un mejor bienestar animal. Las ganaderías de este estudio llevan años con programas de reproducción para mejorar el manejo, de modo que es positivo

recurrir también a la mejora genética. Sería recomendable publicar los valores genéticos de los caracteres de fertilidad de la hembra, y realizar un índice de fertilidad que incluya tres o cuatro de estos caracteres. Del mismo modo, sería conveniente incorporar los caracteres de fertilidad en la función de beneficios y derivar sus pesos económicos para poder desarrollar así un índice de selección por fertilidad. De esta forma se podrá elegir los reproductores más rentables con una combinación óptima de producción y fertilidad.

Gráfica 1. *Evolución fenotípica del intervalo entre partos (IP) y el intervalo entre el parto y la primera IA (IPPIA), frente a la producción de leche desde 1986 hasta 2000.*



Gráfica 2. *Evolución fenotípica del número de IA y del éxito a la primera IA, desde 1986 hasta 2001.*

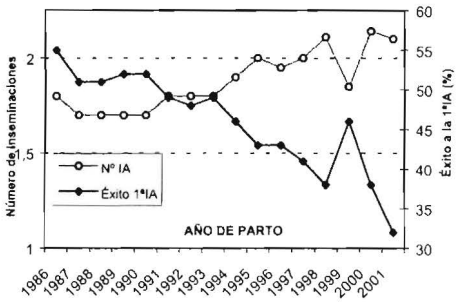


Tabla 1. *Media fenotípica en días y número de inseminaciones (μ) y desviación estándar (σ) de los caracteres de fertilidad.*

	N	μ	σ
EPP	31.017	856	107
CI	46.007	398	58
NIA	65.387	1,97	1,39
DA	64.729	117	56
IPPIA	66.545	81	28

N=Número de datos

Tabla 2. *Heredabilidades (en la diagonal), correlaciones genéticas (encima de la diagonal) y correlaciones fenotípicas (debajo de la diagonal) de los caracteres de fertilidad.*

carácter	EPP	IP	NI	DA	IPPIA
EPP	**0,19**	0,04	0,07	-0,11	-0,02
IP	0,05	**0,03**	0,90	0,96	0,57
NI	-0,01	0,67	**0,03**	0,95	0,01
DA	0,04	0,90	0,75	**0,03**	0,41
IPPIA	0,06	0,38	-0,09	0,41	**0,04**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOICHARD, D., BARBAT, A., BRIEND, M. 1998. Interbull, Bull. Nº18: 99-101.

BROTHERSTONE, S., BANOS, G., COFFEY, M.P. 2002. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.

GROENEVELD, E. AND GARCÍA CORTÉS, L. A. 1998. Proc. 6th. WCGALP. Vol. 27: 455:456.

JANSEN, J. 1986. Livestock Production Sci. 15: 153.

PETERSEN, T., STAMER, E., JUNGE, W., REINSCH, N., KALM, E. 2002. 7th WCGALP Montpellier (France).

PRYCE, J.E., VEERKAMP, R.F., THOMPSON, R., HILL, W.G., SIMM, G. 1997. Animal Science 63: 353-360.

REKAYA, R., CARABAÑO, M.J., ALENDA, R. 1996. Investigación Agraria Producción y Sanidad Animales. Vol 11(3).

SAS, 1991: SAS/STAT. User's Guide. Version 6, 4th Ed. SAS Institute, NC (USA).

SÖLKNER, J. AND FUERST, C. 2002. 7th WCGALP Montpellier (France).

VAN RADEN, P.M. 2002. Proc. 7th WCGALP. Montpellier (France). Vol 29:127-130.

VEERKAMP, R. F., KOENEN, E.P.C., DE JONG, G. 2001. J. Dairy Sci. 84: 2327-2335.

FACTORES AMBIENTALES Y GENETICOS DE INFLUENCIA EN EL PERIODO ENTRE PARTO Y CONCEPCIÓN EN LA RAZA ASTURIANA DE LOS VALLES

Juan Pablo Gutiérrez[1], Iván Fernández[2], Luis José Royo[2], Isabel Álvarez[2] y Félix Goyache[2*]

[1]Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid; [2]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

Las estimas de heredabilidad encontradas para el período entre parto y concepción en ganado bovino lechero son, en general, bajas. A pesar ello este carácter se ha estudiado profusamente en vacas de leche por su influencia en la carrera reproductiva de la vaca y su relación con la producción lechera (PHILIPSSON, 1981; KIRKPATRICK, 1998). Sin embargo, no se encuentran estudios de este carácter en ganado bovino de carne debido a que resulta difícil registrar la fecha de la cubrición fecundante en sistemas que utilizan fundamentalmente la monta natural como sistema reproductivo. Sin embargo, en poblaciones con explotaciones de tamaño medio-bajo y una importante utilización de la inseminación artificial, como en el caso de la raza Asturiana de los Valles, la obtención de datos sobre el número de días que la vaca se encuentra vacía es posible. El objetivo de la presente comunicación es el análisis de los factores ambientales y genéticos de influencia en el período de días vacía (DV) en la raza Asturiana de los Valles en el marco del proyecto MCyt-FEDER 1FD97-1633.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado 21349 de DV de 9379 reproductoras incluidas en la base de datos CORECA. DV se ha calculado como el periodo en días desde el parto hasta la última cubrición registrada. Sólo se han admitido aquellos registros cuyo parto siguiente se realizaba en el rango de duración de la gestación y de intervalo entre partos analizado en trabajos previos (GOYACHE y GUTIÉRREZ, 2001; GOYACHE et al., 2002) La información de pedigrí incluía 2276 animales, por lo que los análisis genéticos incluyeron un total de 11655 animales. Se ha realizado un primer análisis de los factores ambientales de influencia sobre DV utilizando la suma de cuadrados tipo III del PROC GLM del paquete estadístico SAS™ (1999). El modelo ajustado incluía como efectos fijos: el rebaño-año de parto de la vaca (452 niveles), el mes de parto de la vaca (12 niveles), el sexo del ternero en el parto previo (2 niveles) y la edad de la vaca al parto anterior codificada como años (BIF, 1986) (5 niveles: 2 años para vacas menores de 1003 días, 3 para vacas paridas entre 1003 y 1338 días, 4 entre 1339 y 1703 días, 5 entre 1704 y 3926 días y 6 para vacas paridas con más de 3926 días de edad) o como número de parto (4 niveles: primer parto, segundo parto, entre 3 y 9 partos y más de 9 partos). El análisis genético se ha realizado con el programa VCE (GROENEVELD y GARCÍA CORTÉS, 1998) mediante un modelo univariado que consideraba DV como un único carácter independientemente del número de parto de la vaca y mediante un modelo divariado que consideraba caracteres diferentes correlacionados los datos registrados en reproductoras jóvenes (primer y segundo parto) y de reproductoras adultas (de 3 o más partos). Todos los

modelos ajustados incluyeron como efectos fijos el rebaño-año de parto de la vaca (452 niveles), la época de parto (2 niveles) y la edad de la vaca al parto anterior en años y como variables alelatorias, además del error, el efecto del animal que produce el dato y el ambiente permanente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media de la población para DV es 103,2 ± 61,1 días. La Tabla 1 muestra los resultados del análisis estadístico. El coeficiente de determinación del modelo ajustado es del 9%. Todos los efectos ambientales incluidos en el modelo, excepto el sexo del ternero, afectan significativamente DV. Diversos autores han descrito que los terneros machos pueden alargar el anoestro postparto de la madre como consecuencia de una posible mayor intensidad del amamantamiento (WETTEMAN et al, 1978). Sin embargo esto no se encuentra en nuestros datos. Las vacas paridas entre enero y julio presentan valores medios de DV por debajo de la media de la raza mientras que en los meses posteriores sucede lo contrario (100 contra 113 días). Las hembras de primer parto conciben 15 y 24 días más tarde que las novillas de segundo parto y vacas adultas respectivamente (Tabla 2). El 52% de las reproductoras quedó preñada antes de 87 días después del parto lo que permitiría que consiguieran un rendimiento de un parto al año. Sin embargo, el 23% de las reproductoras continúan vacías más de 130 días después del parto, especialmente novillas de primer (36%) y segundo parto (25%).

Tabla 1: Grados de libertad, cuadrados medios, estadístico F y significación para los factores ambientales de mayor influencia sobre DV en la raza Asturiana de los Valles.

Fuente de variación	g.l.	Cuadrado medio	F	p
Rebaño-año de parto	452	12169,11	3,51	<0,001
Sexo del ternero	1	10830,39	3,13	0,077
Mes de parto	11	41724,39	12,05	<0,001
Edad de la vaca en años	4	195932,81	56,58	<0,001
error	20880	3466,07		

La heredabilidad estimada mediante el modelo univariado es del 9% con un ambiente permanente de valor similar. El modelo bivariado presenta mayores estimas de heredabilidad para el carácter tanto en hembras jóvenes (15%) como adultas (13%). El ambiente permanente parece ser mayor en reproductoras jóvenes (9%) que en reproductoras adultas (4%). La correlación genética entre los DV de hembras adultas es de 1. Las heredabilidades encontradas son bajas pero superiores a la encontradas para el mismo carácter en ganado lechero que suele ser inferior al 5% (KIRKPATRICK, 1998) pero comparables con otras encontradas en la misma raza para intervalo entre partos (GOYACHE y GUTIÉRREZ, 2001; GOYACHE et al., 2002). DV se configura como el mismo carácter genético independientemente de la edad de la reproductora con una fuerte influencia ambiental permanente que eleva su repetibilidad hasta valores alrededor del 20%.

Tabla 2: Medias mínimo cuadráticas y errores estándar de DV por edad de la vaca en años al parto anterior y por número de parto en la raza Asturiana de los Valles. Superíndices distintos expresan medias significativamente diferentes para p<0,05.

	N	Media	e.e.
Numero de parto			
Primero	3250	124,22[a]	1,16
Segundo	3416	108,90[b]	1,13
De 3 a 9	13783	100,25[d]	0,71
10 o más	900	106,78[c]	2,05
Edad de la vaca			
2 años	1752	118,01[a]	1,51
3 años	2670	115,07[b]	1,27
4 años	3026	106,25[c]	1,20
De 5 a 10 años	11832	100,79[d]	0,75
11años o más	2069	109,39[c]	1,41

Tabla 3: Varianzas genética (u), ambiental permanente (c), del error (e), covarianza genética (u,u), y estimas de heredabilidad, ambiente permanente y correlación genética de DV en las raza Asturiana de los Valles.

	$Var_{(u)}$	$Cov_{(u,u)}$	$Var_{(c)}$	$Var_{(e)}$	h^2	c^2	$r_{(u,u)}$
Modelo univariado	317,27		332,752	2816,178	0,091	0,096	
Modelo bivariado							
Primer y 2º partos	624,764	514,085	369,711	3070,69	0,154	0,091	1,000
Tres o más partos	423,013		118,404	2663,62	0,132	0,037	

La variabilidad genética encontrada es suficiente para justificar la utilización de DV en programas de mejora de bovino de carne. Deberán realizarse análisis complementarios sobre la correlación genética existente entre DV y otros caracteres reproductivos que aumenten la información sobre este carácter.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOYACHE, F., GUTIÉRREZ, J. P., 2001. Heritability of reproductive traits in Asturiana de los Valles beef cattle breed. Arch. Tierz. 44, 489-496.

GROENEVELD, E., GARCÍA-CORTÉS, A., 1998. VCE4.0, a (co) variance component packages for frequentist and Bayesians. In: 6 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, Australia 27, 455-458

GUTIÉRREZ, ALVAREZ, I., FERNÁNDEZ, I. J.P., ROYO, L.J., DÍEZ, J., GOYACHE, F. 2002. Genetic relationships between calving date, calving interval, age at first calving and type traits in beef cattle. Livest. Prod. Sci., 78: 215-222

KIRKPATRIC, B.W. 1998. Genetics and biology of reproduction in cattle. In Fries, R. And Ruvinsky, A. (Eds.) The Genetics of Cattle, 391-410 pp

PHILIPSSON, J. 1981. Genetic aspects of female fertility in dairy cattle. Livest. Prod. Sci. 8: 307-319.

WETTEMAN, R.P., TURMAN, E.J., WYATT, R.D., TOTUSEK, R. 1978. Influence of suckling intensity on reproductive performance of range cows. J. Anim. Sci. 47, 342-346

PARÁMETROS GENÉTICOS PARA EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN OVEJAS DE RAZA LATXA

Ugarte, E.; Arranz, J.; Arrese, F*
NEIKER. Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz
*CONFELAC. Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

En ovino lechero la mamitis supone una de las principales causas de desecho de los animales y va unido a importantes pérdidas económicas (Fthenakis y Jones, 1990) debido a pérdidas en producción y a la alteración de propiedades de la leche, que inciden en su rendimiento quesero (Pellegrini y col., 1994). Sin embargo, y a diferencia de lo que ocurre en vacuno lechero, la incidencia de mastitis clínica es muy escasa lo que añade una dificultad adicional para la introducción de dicho carácter dentro de los programas de mejora genética y la lucha contra la mamitis se limita a la lucha contra las mamitis subclínicas. Dentro de este contexto el recuento de células somáticas en leche (RCS) se presenta como un buen indicador de la incidencia de dichas mastitis y posibilita su uso dentro de los programas de mejora genética. En este sentido y aunque la bibliografía existente es muy escasa comparada con el vacuno, diversos estudios han mostrado que es factible una selección genética contra la mastitis utilizando como criterio de selección el recuento de células somáticas (Barillet y col., 2001). Así, en Francia, la raza Lacaune ha implementado ya un programa de este tipo (Rupp y col., 2002)

Asimismo, se debe tener en cuenta que además de las posibles relaciones existentes entre este carácter y otros caracteres de interés como producción de leche, sanidad y morfología mamaria, longevidad funcional, etc... las industrias lácteas han introducido este aspecto al establecer el precio del litro de leche. Concretamente, en la Comunidad Autónoma del País Vasco (zona de producción de la oveja de raza Latxa), la industria láctea, en la campaña 2002, depreció el litro de leche en 0,012 € cuando la leche tenía más que 750.000 células/mililitro (cel/ml) y primó 0.018 € más el litro con contenido menor a 400.000 cel/ml. En relación a esto es de esperar la pronta publicación de una directiva europea que hace referencia a los niveles mínimos de células somáticas para la leche de oveja, al igual que exite para la leche de vaca.

En la raza Latxa se han realizado diversos estudios enfocados a determinar los valores umbrales de la raza para poder detectar mastitis subclínicas y los valores a partir de los cuales las pérdidas de producción son apreciables (Romeo, 1998). Asimismo, se ha hecho gran hincapié en la mejora de prácticas de manejo y se ha conseguido disminuir de forma importante los valores medios de RCS (Gonzalo y col., 2000). Sin embargo, la recogida sistemática de RCS a nivel individual se inició a partir del año 1999 y no de forma general, sino en un grupo reducido de rebaños. En este trabajo se presentan los primeros análisis realizados con estos datos con el objetivo de conocer los parámetros genéticos de dicho carácter en esta raza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos proceden de 58 explotaciones de Latxa Cara Negra y han sido recogidos dentro del programa de control lechero entre los años 2000, 2001 y 2002. En el proceso de depuración de datos se han eliminado aquellos controles que estaban fueran del rango entre $10x10^3$cel/ml y $10x\ 10^6$ cel/ml por considerarlos anómalos.

Los datos individuales de RCS fueron transformados a una escala logarítmica ($RCSTt=\log_2(RCS/100000)+3$) de acuerdo a Ali y Shook, (1980). Se calculó una media lactacional (RCSTL) computando la media aritmética de los recuentos individuales transformados que previamente fueron corregidos por el estado de

lactación (Wigggans and Shook, 1987) La media solo fue calculada en aquellas lactaciones que, al dividirlas en tres tramos diferentes (inicial, nmedio y final) tenían, como mínimo, datos de RCS en dos de ellos

La estimación de los parámetros genéticos se realizó con dos grupos de datos. Uno de ellos (MT) formado por todas las lactaciones válidas y otro de ellos formado por aquellas lactaciones válidas correspondientes a ovejas que tenían dato de su primera lactación (M1). El análisis se ha realizado utilizando dos enfoques diferentes: lactacional (MTL y M1L respectivamente para el grupo MT y M1) y datos control a control o test-day (MTC y M1C para los grupos MT y M1). En ambos casos se utilizó un modelo multicarácter que contemplaba conjuntamente la producción lechera (lLtipo: producción a los 120 primeros días de lactación) y el recuento de células somáticas. En la tabla 1 se describe las características de los datos utilizados.

Tabla 1: Descripción de datos

	MT		M1	
	MTL	MTC	M1L	M1C
Nº datos	10668	35111	3432	10651
Valor medio de RCSTL	3,11	3,12	2,78	2,80
Nº hembras en datos	7166		2320	
Nª machos en datos	436		234	
Nº de animales en genealogía	15184		8064	

Las ecuaciones de los modelos utilizados en el análisis lactacional fueron las siguientes:

Para RCSLT, $Y_{ijklm} = RAE_i + EDNP_j + NCV_k + ANI_l + PERM_l + \hookrightarrow_{ijklm}$

Para Ltipo, $Y_{ijklom} = RAE_i + EDNP_j + NCV_k + IP1C_o + ANI_l + PERM_l + \hookrightarrow_{ijklom}$

Donde RAE representa la combinación rebaño-año-mes; EDNP, la combinación número de parto-edad; NCV, el número de corderos nacidos vivos, IP1C, el intervalo parto-primer control; ANI el efecto genético aditivo del animal y PERM; el efecto permanente del mismo animal. Estos dos últimos factores junto con el residuo (↪) fueron considerados efectos aleatorios. En los modelos test- el efecto RAE correspondía a la combinación rebaño-día de control.

Para la estimación de componentes de varianza se utilizó el programa VCE 4.2.5. (Groeneveld y García Cortés, 1998) aplicando la metodología REML.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran las estimas de parámetros genéticos obtenidas

Tabla 2: Estimas de heredabilidad (h^2) y correlación genética entre RSTL y Ltipo obtenidas con los diferentes modelos

		h^2 rcstl	h^2 ltipo	R
MT	MTL	0,128	0,223	-0,171
	MTC	0,131	0,342	-0,216
M1	M1L	0,159	0,259	-0,255
	M1C	0,107	0,238	-0,250

Las estimas de heredabilidad concuerdan, en general, con resultados obtenidos en otras razas como la Lacaune (Barillet y col., 2001; Rupp y col,2002), Manchega (Serrano y col.; 2002), Churra (Baro y col; 1994; El-Saied y col; 1998, 1999) o Chios (Ligda y col, 2002). No se observaron grandes diferencias entre los

modelos lactacionales y los modelos test-day. Otros autores (Barillet y col, 2001) encuentran este mismo hecho aunque en los modelos test-day cuando consideran los controles como caracteres diferentes dentro de la lactación las estimas obtenidas son muy variables. Las estimas negativas de correlación genéticas son de signo contrario a las encontradas en la raza Lacaune y a las encontrada en vacuno de leche. Sin embargo, en la razas Manchega, Churra o Chios las correlaciones encontradas también han sido de signo negativo. Igualmente en la raza Lacaune obtienen estimas negativas en los modelos tes-day que contemplan los controles como caracteres diferentes.

En todo caso, las estimas obtenidas indican la existencia de variabilidad genética susceptible de ser explotada a través de un programa de mejora genética y en nuestro caso, la correlación genética negativa encontrada entre producción y recuento de células somáticas favorecería la puesta en marcha de un programa de dichas características.

Una vez estudiados los resultados obtenidos, y dada por un lado la escasa bibliografía existente en ovino lechero, las incógnitas que presenta su relación genética con la producción de leche y con el propio carácter en el que estamos interesados, así como la dificultad de trabajar directamente con el carácter mastitis se hace evidente que son necesarios más estudios que comprendan un mayor número de datos. También son necesarios mas estudios para determinar la idoneidad de utilizar modelos lactacionales o modelos test-day. Por otro lado, mientras se continua con la recogida sistemática de esta información dentro del programa de control lechero y, teniendo en cuenta la gran influencia que sobre el RCS tiene el medio ambiente, los esfuerzos de los técnicos que trabajan dentro del programa de mejora de la raza latxa están enfocados hacia las mejora de prácticas de manejo que pueden reducir sensiblemente los valores medios (Gonzalo y col. 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ali, A.K.A. and Shook, G.E. 1980. J. Dairy Sci., 63: 487-490.

Barillet, F.; Rupp, R.; Mignon-Grasteau, S.; Astruc, J.M.; Jacquin, M. 2001. Genet, sel, evol, 33: 397-115.

Baro, J.A.; Carriedo, J.A. and San Primitivo, F. 1994. J. Dairy Sci. 77: 2658-2662.

El-Saied, U.M.; Carriedo, J.A.; De la Fuente, L.F. ; San Primitivo, F. 1998. J. Dairy Sci., 81: 2956-2961

El-Saied, U.M.; Carriedo, J.A.; De la Fuente, L.F. ; San Primitivo, F. 1999. J Dairy Sci., 82: 639-644.

Fthenakis, G.C.; Jones, J.E.T. 1990. British Veterinary Journal, 146: 43-49.

Gonzalo, C.; Tárdaguila, A.; Ariznabarreta, A.; Romeo, M.; Montoro, V.; Pérez-Guzman, M.D.; Marco, J.M. 2000. Ovis, 66: 21-27.

Groeneveld, E.; García Cortés, A. 1998. In proceeding of the 6th WCGALP. Vol 27: 455-456.

Ligda, c.; Mavrogenis, A.; Papathopoulos, Th:; 2002 FAO-CIHEAM Net-work of sheep and goats. Subnetwork on genetic resources. Sassari (Italia)

Pellegrini, O.; Aurel, M.R.; Lagriffoul, G.; Marie, C.; Remeuf, F.; Rivemale, M.; Barillet, F. 1994. In proceeding of the International Symposium on Somatic Cells and Milk of Small Ruminants, Bella, 25-27 September. Italy, EAAP publication 77: 253-258.

Romeo, M.; Marco, J.C.; Juste, R.A. 1998. Rapport individuel d'avancement. Programme FAIR 1 CT 950881.

Rupp, R.; Boichart, D.; Barbat, A.; Astrcu, J.M; Lagriffoul, G:, Barillet, F. 2002. In proceedings of the 7th WCGALP, 31: 119-122.

Serrano, M.; Pérez-Guzmán, M. D.; Montor, V.; Jurado, J. J.; 2002 FAO-CIHEAM Net-work of sheep and goats. Subnetwork on genrtic resources. Sassari (Itlaia).

Wiggans, G.R. and Shook, G.E. 1987. J. Dairy Sci. 77: 2666-2672.

PARAMETROS DE CRUZAMIENTO DE CARACTERES PRODUCTIVOS EN EL CONEJO DE CARNE**

Piles M.[1], Gómez E.A.[2], Rafel O.[1], Ramon J.[1]

[1] Unidad de Cunicultura – IRTA, 08140 Caldes de Montbui, Barcelona.
[2] Departamento de Ganadería – IVIA. 46113 Moncada, Valencia.

INTRODUCCION

Es possible aumentar la eficiencia de la producción de carne mediante cruzamientos aprovechando la diversidad entre las poblaciones de conejo seleccionadas. Los parámetros de cruzamiento han sido bien estudiados en caracteres maternos, con valores elevados de la heterosis individual y materna, pero son pocos los trabajos que analizan los caracteres productivos durante el período de engorde o al sacrificio (especialmente el índice de conversión). Además, estos parámetros pueden diferir entre poblaciones, y también evolucionar a lo largo del tiempo, con la selección.

Los caracteres velocidad de crecimiento durante el periodo de engorde y peso vivo al final del mismo, son usados como criterio de selección de las líneas de las que proceden los animales utilizados como machos terminales en el esquema de producción de carne de conejo (Estany et al., 1992; Retailleau et al., 1994). El carácter índice de conversión es de gran importancia económica ya que el coste de alimentación durante el periodo de engorde representa el 40% de los costes totales (Baselga and Blasco, 1989). Sin embargo, es difícil de mejorar a través de la selección directa no solo porque es costoso de medir sino también por problemas relacionados con el uso de ratios (Gunsett, 1987) por lo que se asume una mejora indirecta a través de su correlación negativa con la velocidad de crecimiento (Moura et al., 1997; Piles et al., 2003). El rendimiento de la canal es también un carácter de importancia económica actualmente en España, ya que las canales son clasificadas y su precio penalizado en función de si éste valor es inferior a uno determinado, en los mataderos comerciales.

El objetivo de este trabajo es evaluar la importancia de factores genéticos y ambientales en estos caracteres en un cruce dialélico entre 2 líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento en el periodo de engorde, ampliamente difundidas en España.

MATERIAL Y METODOS

Se diseñó un plan de cruzamientos dialélico completo para la producción contemporánea de cuatro grupos genéticos (C, CxR, RxC y R). La línea C, creada en 1979 se seleccionó hasta 1993 por niveles independientes (peso de la camada al destete y velocidad de crecimiento individual entre 32 y 60 días, Gómez et al., 2000). Actualmente se realiza selección individual por velocidad de crecimiento, con generaciones solapadas. En la línea R se practica también selección individual sobre el mismo carácter, desde 1980 (Estany et al., 1992).

Los gazapos estudiados nacieron entre 07/01 y 04/02, como descendientes de 12(13) machos y de 19(23) hembras de la línea C (R). Tras el destete, los pesos y

**Este trabajo se enmarca en el Proyecto de Investigación SC00-011.

consumos individuales fueron recogidos semanalmente durante el periodo de engorde en jaulas individuales. A los 66 días de edad fueron sacrificados en un matadero comercial. Se analizaron los siguientes caracteres de crecimiento y consumo: ADG: crecimiento entre 32 y 60 días (g/d), ADFI: consumo medio diario (g/d), FCR: índice de conversión, LW_{60}: peso vivo al final del periodo. Además, se estudiaron los caracteres SW: peso vivo a 66 días, CCW: peso de la canal fría (tras 24 h a 4°C), DoP: rendimiento canal (%) y DLP: pérdidas por goteo(%).

El modelo mixto utilizado incluyó como fijos los efectos de grupo genético (4 niveles), lote (10 niveles), parto (primero, segundo y resto), tamaño de la camada en la que el individuo nació (8 niveles), como covariable LW_{60} (para ADG, ADFI y FCR) y como aleatorios el efecto de camada de origen (335 niveles) y el efecto animal (1625 individuos en la genealogía). Se obtuvieron funciones estimables de los parámetros del cruce mediante contrastes entre grupos genéticos, utilizando el modelo de Dickerson (1969).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 aparecen las medias mínimo cuadráticas de los caracteres estudiados en función del tipo genético. Los gazapos del grupo C alcanzaron menores pesos a 60 y a 66 días y tuvieron un menor consumo diario de pienso que los gazapos del grupo R, pero no se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) ni en la velocidad de crecimiento ni en el índice de conversión. No se observaron diferencias sinificativas entre los grupos de cruzados en ninguno de los caracteres estudiados. Los pesos de canal mantuvieron la misma ordenación que en SW, siendo más ligeras las canales de la línea C, aunque el rendimiento canal más bajo correspondió al grupo de la línea R. No se observaron diferencias en las pérdidas de agua por goteo entre los cuatro tipos genéticos.

En trabajos anteriores que comparaban estas mismas líneas (Gómez et al., 1998) la línea R presentaba mayores pesos vivos y de canal, mayor velocidad de cecimiento y menor rendimiento de canal, posiblemente debido a su menor grado de madurez al peso comercial de sacrificio (Piles et al. 2000, Blasco et al. 2003). Las diferencias entre las líneas R y C pueden explicarse por su diferente origen genético, y por una más acentuada selección por crecimiento en la línea R. En nuestro experimento, no aparecen diferencias significativas entre líneas en ADG, aunque sí lo son ($P<0.10$) en FCR y DoP, a favor de la línea C.

En la tabla 2 se presentan los parámetros del cruzamiento. Casi en su totalidad no son significativamente distintos de cero, al igual que en los resultados de Gomez et al (1999) con la línea R y otras dos líneas maternales. Únicamente podemos destacar la diferencia entre efectos genéticos directos de las líneas C y R para los caracteres LW_{60} y ADF, que indican un mayor peso y un mayor consumo de los descendientes de animales R frente a los descendientes de animales C. Otros autores (Brun et al. 1992, Eiben et al. 1996, Szendro et al., 1996, Medellin y Luckefahr, 2001) han estimado valores de heterosis en peso vivo a diferentes edades, en ADG y también en DoP en cruces de diferente composición.

No parece que el aprovechamiento de la heterosis en el cruce entre estas líneas tenga sentido para los caracteres de crecimiento, consumo y canal estudiados. Sin

embargo, es necesario mantener los programas de selección dada la importancia de los efectos genéticos directos, aprovechando la complementariedad en el cruce terminal entre líneas cárnicas y las hembras cruzadas en un esquema de cruzamiento a tres vías.

Tabla 1. Medias mínimo cuadráticas (y errores estándar) de los caracteres estudiados por tipo genético

Carácter[1]	C	CxR	RxC	R
LW_{60}	2331 (27) a	2459 (31) b	2429 (34) b	2460 (27) b
ADG (g/d)	55.4 (0.40)	54.9 (0.40)	55.8 (0.50)	55.8 (0.4)
ADFI (g/d)	158 (1.0) a	159 (1.0)ab	162 (1.0)b	161 (1) b
FCR	2.84 (0.030)	2.89 (0.030)	2.89 (0.040)	2.90 (0.03)
SW (g)	2549 (44)a	2704 (41) b	2620 (45) ab	2701 (44) b
CCW (g)	1505 (27)a	1595 (25) b	1541 (28) ab	1579 (27) b
DoP (%)	58.9 (0.20) ab	59.0 (0.20)b	58.8 (0.20)ab	58.5 (0.20)a
DLP (%)	2.2 (0.10)	2.2 (0.10)	2.2 (0.10)	2.3 (0.10)

Table 2. Heterosis directa (h), y funciones estimables de los efectos genéticos directos (g_C-g_R) y de los efectos genéticos maternos (m_C-m_R) en el cruzamiento entre las líneas C y R

Carácter	h_{CR}^2	g_C- g_R^2	m_C- m_R^2
LW_{60}	49 (27)	-99** (46)	-29 (37)
ADG (g/d)	-0.3 (0.4)	-1.3 (0.7)	0.9 (0.6)
ADFI (g/d)	0.6 (1.1)	-6** (2)	3 (2)
FCR	0.02 (0.03)	-0.05 (0.06)	0.002 (0.048)
SW (g)	36 (33)	-67 (63)	-84 (46)
CCW (g)	26 (20)	-19 (39)	-55 (28)
DoP (%)	0.20 (0.18)	0.60 (0.33)	-0.2 (0.2)
DLP (%)	- 0.06 (0.08)	-0.10 (0.15)	0.01 (0.11)

** Distinto de 0 con P<0.05.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Baselga y Blasco. 1989. Ed. Mundiprensa. Madrid, España.

Blasco A., Piles M., Varona L., 2003. **Genet. Sel. Evol.**, (in press).

Brun J.M., Bolet G., Ouhayoun J., 1992. **J. Appl. Rabbit Res.**, 15: 181-189.

Dickerson G., 1969. **Anim. Breed. Abstr.**, 37: 191-202.

Eiben C., Szendro Z.S., Allain D., Thebault R.G., Radnai I., Biró-Németh E., Lanszki J., 1996. **Proc. 6th World Rabbit Congress,** Vol 1: 351-357.

Estany J., Camacho J., Baselga M., Blasco A., 1992. **Genet. Sel. Evol.**, 24: 527-537.

Gómez E.A., Rafel O., Ramon J., 1998. *Proc. 7èmes Journ. Rech. Cunicole Fr.*, 33-36.

Gómez E.A., Rafel O., Ramon J., Baselga M., 1999. **Cah. Options Méditerr.**, 41:153-158.

Gómez E.A., Rafel O., Ramon J., 2000. **Proc. 7th World Rabbit Congress,** Vol A: 183-190.

Gunsett, F.C. 1987. **J. Anim. Sci.**, 65:936-942.

Medellín, M.F. y Luckefahr, S.D. 2001. **J. Anim. Sci.** 79:1173-1178

Moura A.S.A.M.T., Kaps M., Vogt D.W., Lamberson W.R., 1997. **J. Anim. Sci.**, 75: 2344-2349.

Piles M., Blasco A. Pla M., 2000. **Meat Sci.**, 54: 347-355.

Piles M., Rafel O., Ramon J., Gomez E.A., 2003. **Livest. Prod. Sci.**, (enviado).

Rochambeau H de, Retailleau B, Poivey J.P., Allain D., 1994. **Proc VI Journ, Rech. Cunicole Fr.**, 235-240.

Szendro, Z.S., Biró-Németh E., Radnai I., Jensen N.E., Kenessey A., 1996. **Proc. 6th World Rabbit Congress,** Vol 2: 359-364.

RELACIÓN DE CARACTERES DE CONFORMACIÓN CON LONGEVIDAD FUNCIONAL EN GANADO FRISÓN UTILIZANDO TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.

Chirinos, Z[1]., Hernández, D[2]., Carabaño, M.J[1].
[1.] Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA. Madrid.
[2.] Departamento Técnico –CONAFE, Ctra. Andalucía, Km. 23,6. 28340. Madrid.

INTRODUCCIÓN

La longevidad es uno de los componentes más importantes en el negocio ganadero y su ventaja económica se ve reflejada principalmente al retener en el rebaño tanto tiempo como sea posible vacas sanas y productoras. Dado que la selección de animales productivos se hace a partir de las valoraciones para los caracteres de producción lechera, la medida de longevidad de interés es la longevidad funcional. Esta se obtiene corrigiendo la medida observada de longevidad verdadera por la producción láctea media del rebaño (Essl,1998; Vollema, 1998). Una de las metas que persigue el programa de clasificación por conformación en ganado lechero es la de identificar y acentuar aquellos rasgos asociados con la funcionalidad del animal. Muchos ganaderos tienen la idea de que al seleccionar continuamente por producción de leche están afectando el estado físico del animal repercutiendo negativamente en su longevidad y rentabilidad (Short y Lawlor,1992). Desde hace tiempo se han venido utilizando los caracteres morfológicos como indicadores indirectos de la longevidad, ya que son recolectados de forma temprana en la vida del animal, tienen mayor heredabilidad que las medidas directas de longevidad y tienen una correlación genética moderada con la longevidad (Vollema, 1998; Büenger y col., 2001; Larroque y Ducrocq, 2001).

El presente estudio lleva por finalidad determinar el efecto de los caracteres de conformación en la longevidad funcional del ganado frisón utilizando técnicas de análisis de supervivencia, consideradas como óptimas desde el punto de vista estadístico para tratar el carácter longevidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados provienen del control lechero y de calificación morfológica oficial aportados por CONAFE. La medida de longevidad (LON) para cada animal fue calculada como el número de días entre el primer parto y el último control lechero registrado, asumida esta como fecha de eliminación dado que no se dispone de datos fiables de causa y fecha de baja de las vacas en los rebaños. Las vacas tenían datos completos si existía una diferencia superior a 7 meses desde la fecha de su último control y la fecha del último control en su rebaño. En caso contrario, LON era considerada como censurada. Fueron eliminándose datos de todas aquellas vacas sin información de primer parto, sin datos de producción o con valores de producción y edad fuera de límites establecidos por CONAFE. Los caracteres morfológicos estudiados fueron: textura de la ubre (TU), inserción anterior ubre (IA), inserción posterior ubre (IP), ligamento suspensor (LS), profundidad de ubre (PU), colocación pezones anteriores (PA), colocación pezones posteriores (PP), longitud pezones (LP), estatura (ES), angulosidad (AN), tamaño (TA), pecho (PE), lomo (LO), profundidad corporal (PC), ancho de grupa (AG), colocación de isquiones (CI), ángulo podal (AP), calidad de hueso (CH) y vista lateral de patas (VL), evaluados en escala de 1 al 9 por calificadores de CONAFE. Se utilizaron datos de 100.218 vacas repartidas en 652 rebaños con fecha de primer parto entre 1988 y 2000. Del total de vacas 45.540 fueron censuradas (45.4%) con una media de LON de 815.6 días y 54678 contaban con datos completos con una media de LON de 975.6 días y 87507 vacas estaban calificadas por conformación.

El análisis de supervivencia fue realizado con el Survival Kit de Ducrocq y Sölkner (1998), a través del siguiente modelo de referencia:

$$\lambda(t)= \lambda_o (t)*\exp\{RAE_i(\tau)+EP_j+LS_k(\tau)+TR_l(\tau')+ PL_m(t)+ PG_n(t)+PP_o(t)+IT_p+CC_q\};$$ donde:

$\lambda(t)$= función de riesgo. **$\lambda o(t)=\lambda\rho(\lambda t)^{\rho-1}$)=** función Weibull de riesgo base (valor fijo de ρ=2.0). **$RAE_i(\tau)$=**Efecto rebaño-año-época de parto. **EP_j=**Efecto edad al primer parto (9 clases). **$LS_k(\tau)$=** Efecto número de lactación(1,2,3,4,5,6, ≥7)-estado de la lactación(0,180,240,300 días).**$TR_l(\tau')$=** Efecto variación anual tamaño del rebaño (11 clases). **$PL_m(t)$, $PG_n(t)$ y $PP_o(t)$=** Efecto producción de leche, grasa y proteína (8 clases). No se consideraron en el modelo para la longevidad no corregida por producción. **IT_p=**Efecto presencia o ausencia de información de calificación morfológica. Se corrige porque si una vaca no está calificada podría incrementar su riesgo de desecho. **CC_q=** Carácter de conformación lineal. Se incluyó cada carácter de uno en uno en cada análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El test de razón de verosimilitud aplicado a modelos sucesivamente más complejos que incluyen los efectos de forma secuencial determinó que todos los efectos sistemáticos diferentes a los caracteres de conformación incluidos en el modelo fueron significativos ($P < 0.0001$) y reveló que la inclusión de los efectos RAE, EP y LS supusieron mejoras importantes, tanto en la verosimilitud como en el estadístico R^2 de Maddala que suministra el programa y cuyos valores oscilaron entre 0.46 y 0.64. Este estadístico es similar al tradicional R^2 de los modelos de regresión lineal y muestra la bondad de ajuste del modelo. Considerando nuestro objetivo principal de investigación nos centraremos a discutir mas los resultados referentes a los caracteres morfológicos.

La Figura 1 muestra la contribución de cada carácter morfológico en el cambio del logaritmo de la verosimilitud (-2 log L) al incluirse en el modelo de referencia. Su magnitud representa la importancia relativa del carácter en la longevidad. De acuerdo con esta Figura, son más importantes en el desecho de los animales los caracteres relacionados con la ubre como: IP, LS, PU, LP, IA y los caracteres de capacidad corporal que los de patas y pies. Para PU su impacto se ve incrementado al corregir por producción coincidiendo con lo hallado por Büenger y col., (2001). En los trabajos de Vollema (1998), Essl (1998), Larroque y Ducrocq (2001), se concluye que los caracteres más relacionados con la longevidad funcional, son los referidos al sistema mamario.

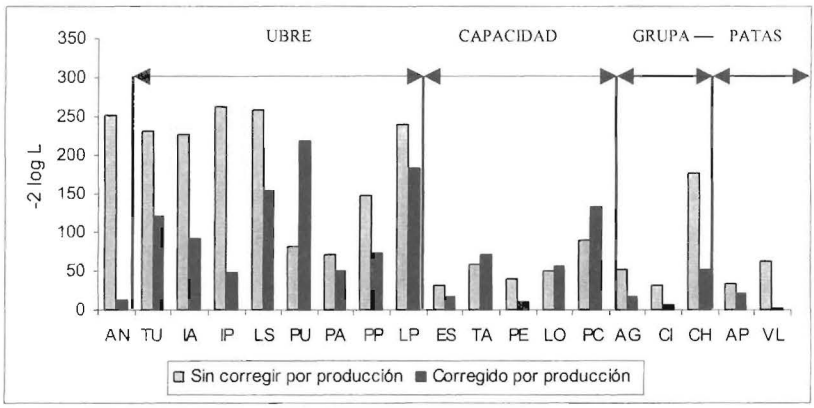


Figura 1. Contribución de cada carácter morfológico en el cambio en del logaritmo de la verosimilitud al incluirse en el modelo de referencia.

Las soluciones de los efectos incluidos en el modelo se expresan como razón de riesgo relativo (RR), definido como la proporción entre el riesgo estimado de ser eliminado bajo la influencia de cualquier factor ambiental y el riesgo de ser eliminado bajo el nivel del factor

que se fija como referencia y que aparece con riesgo relativo 1. El número de datos completos para cada clase nos da una idea de la fiabilidad de las estimaciones.

Los resultados de RR para cuatro caracteres asociados con la ubre: PU, LS, IP y LP se presentan en la figura 2. En general existe una tendencia a disminuir el riesgo de desecho en vacas clasificadas con puntuaciones de 4 en adelante, a excepción de PU que muestra una respuesta diferente al corregir longevidad por producción, vemos como su RR disminuye en animales mejor calificados y en el caso de LP que presenta un óptimo intermedio para los mejores animales en este carácter. Los resultados obtenidos concuerdan con otras investigaciones en las que también se estudiaron la relación entre el tipo y la longevidad del ganado vacuno de leche y reportaron que vacas con una buena conformación de ubre, bien sujeta, pezones de correcto tamaño y que en general soporten la producción de grandes cantidades de leche mejoraría su permanencia en el rebaño (Schneider y col., 1999; Büenger y col., 2001; Larroque y Ducrocq, 2001).

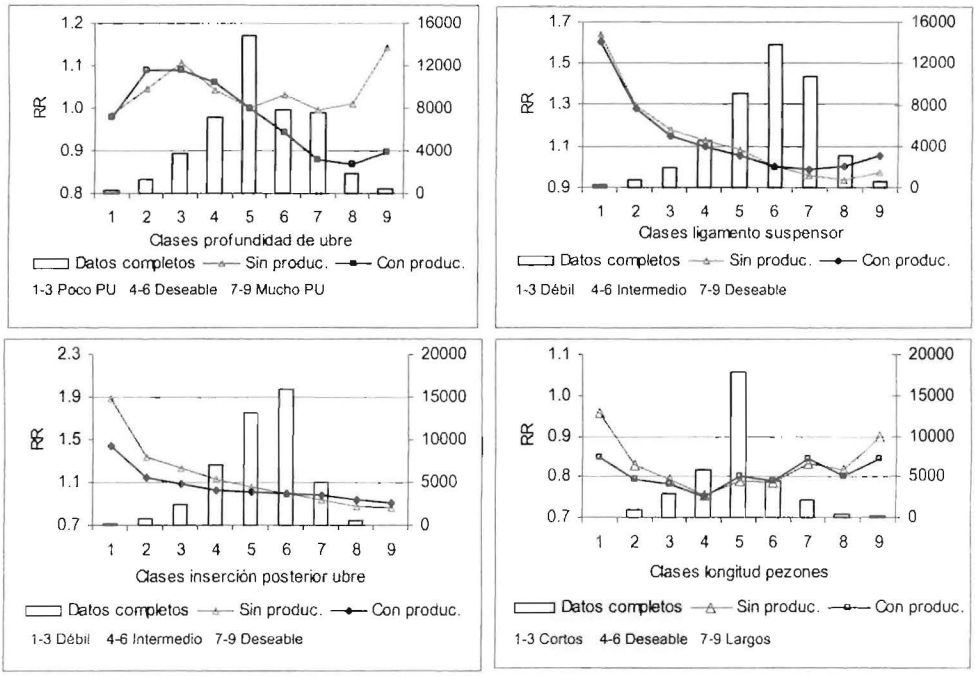


Figura 2. Efecto de algunos caracteres relacionados con la ubre sobre el riesgo relativo (RR) de ser eliminado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Büenger, A., Ducrocq, V., y Swalve, H.H. 2001. J. Dairy. Sci. 84: 1531-1541.
Ducrocq, V. y J. Sölkner. 1998. Proc. 6 th WCGALP. Armidale, Australia. 27:447-448.
Essl, A. 1998. Livest. Prod. Sci. 57, 79-89.
Larroque, H., y Ducrocq, V. 2001. Genet. Sel. Evol. 33: 39-59.
Schneider, M Del P., Monardes, H.G., y Cue, R.I. 1999. Interbull Bulletin 21: 111-116.
Short, T.H., y Lawlor, T.J. 1992. J. Dairy Sci. 75: 1987-1998.
Vollema, A.R. 1998. Animal Breeding Abstracts. 66(9): 781-802.

ESTIMACIÓN DE PARAMETROS GENÉTICOS DEL PESO VIVO EN LOS PRIMEROS 75 DIAS DE EDAD EN OVINO MERINO ESPAÑOL.

Menéndez Buxadera A.[1], J.M. Serradilla[2], M. Valera[3] y A. Molina[3]

[1] Centro de Control Pecuario, Ministerio de la Agricultura, Conill y Boyeros, Ciudad de La Habana (Cuba).
[2] Departamento de Producción Animal, E.T.S.I.A.M. Universidad de Córdoba (España)
[3] Departamento de Genética. Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba (España)

INTRODUCCIÓN

La oveja merina es una de las principales razas ovina de España, con unos 4,5 millones de reproductoras (un 18,6% del censo nacional). Su histórica orientación a la producción lanera determinó una grave crisis del sector cuando el precio de esta fibra cayo en la década de los 70, situándose la raza en grave peligro debido a los cruzamientos indiscriminados y al descuido de las condiciones de explotación de su sistema productivo tradicional. En la década de los 80 la Asociación de Criadores reorientara la raza hacia la producción cárnica, con cría en pureza y un sistema de cría más racional, creando un Núcleo de Control Cárnico con registro sistemático del potencial de crecimiento de los corderos y selección masal. En 1996 se inicia oficialmente el Esquema de Selección de la raza en los que se considera el potencial de crecimiento el peso vivo a diferentes edades y algunos caracteres reproductivos como criterios de selección.

En el presente trabajo se realiza una estimación de los principales parámetros genéticos para el peso al nacimiento, a los 30, 60 y 75 días de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se emplearon los controles de crecimiento correspondientes a 32701 corderos Merino autóctono español. Estos animales nacieron entre 1992 y 2002 en un total de 43 ganaderías y eran hijos de 16699 hembras apareadas con 574 moruecos. El 47 % de las madres registraron más de un cordero controlado. El pedigree para la obtención de la matriz A^{-1} contó con un total de 49479 animales.

El peso vivo ($\mathbf{PV_i}$) de cada animal fue obtenido durante las visitas periódicas realizadas a cada ganadería por el controlador oficial, salvo el peso al nacimiento ($\mathbf{PV_0}$) que fue realizado directamente por el propio ganadero. En general, cada animal contó con cuatro pesadas en los primeros tres meses de vida. Estos $\mathbf{PV_i}$ han permitido la estimación de los pesos de referencia ajustados a 30, 60 y 75 días ($\mathbf{PV_{30}}$, $\mathbf{PV_{60}}$ y $\mathbf{PV_{75}}$ respectivamente).

Se ensayaron diversos modelos estadísticos con el objetivo de conocer las principales causas de variación que afectan las variables dependientes estudiadas y determinar el modelo de mejor ajuste. Los efectos de ganadería-año-época (293 niveles), la edad al parto de la hembra (11 niveles) y la combinación sexo del cordero y tipo de parto de la hembra -simple ó doble-, con 4 niveles, fueron considerados como efectos fijos mientras que el efecto animal (49479 niveles) y el ambiente materno permanente (16699 niveles) se incluyeron como efectos aleatorios.

El análisis se llevó a cabo con el software ASREML (Gilmour y cols, 1998) empleando el algoritmo *Average Information* REML. Con este paquete estadístico se han estimado los componentes de (co)varianza para los efectos genético aditivos directo (σ^2_D), maternos (σ^2_M) así como la covarianza entre ambos (σ_{DM}) y la varianza de los efectos permanentes del ambiente materno (σ^2_P). La heredabilidad para efectos genéticos directos ($\mathbf{h^2_D}$) y maternos($\mathbf{h^2_M}$), la correlación genética entre ambos efectos ($\mathbf{RG_{DM}}$), repetibilidad (Γ_i) para cada variable dependiente, así como las correlaciones genéticas (r_g) y fenotípicas (r_f) entre $\mathbf{PV_i}$ fueron estimados mediante una función lineal de los correspondientes componentes de (co)varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los componentes de varianza de origen genético (tabla 1) manifestaron incrementos muy marcados en la medida que avanza la edad de los animales, sin embargo este patrón fue mucho más intenso para la varianza total, de manera que los parámetros genéticos presentaron una tendencia decreciente tanto para $\mathbf{h^2_D}$ como $\mathbf{h^2_M}$ y particularmente para $\mathbf{RG_{DM}}$. Es interesante destacar que la importancia relativa del efecto del ambiente permanente materno ($\mathbf{C^2 = 100^*}\ \sigma^2_P / \sigma^2_T$), que alcanzó un máximo de 10.13% para $\mathbf{PV_0}$, fue disminuyendo hasta alcanzar el 3.1% para $\mathbf{PV_{75}}$. Este decrecimiento en los efectos maternos se reflejó también en una importante depresión en la magnitud de la $\mathbf{RG_{DM}}$ cuyo valor absoluto cayó hasta un moderado antagonismo entre efecto directo y materno a los 75 días de edad. Este hecho, junto con la mayor heredabilidad materna a los 30 días, apoya la elección del peso a los 30 días como criterio de selección de la capacidad materna de la oveja. De la misma forma, el peso a los 75 días, reflejo de la máxima influencia de los efectos directos y mínima de los maternos, es el criterio de elección como medida del potencial individual de crecimiento del cordero.

Tabla 1. Componentes de (co)varianza y parámetros genéticos* para el peso vivo ajustado en ovino Merino español.

Componentes**		PV_0	PV_{30}	PV_{60}	PV_{75}
Efecto Directo	σ^2_D	0.1045	0.6901	1.9209	2.8535
Efecto Materno	σ^2_M	0.0637	0.7136	1.3400	1.9353
Covarianza	σ_{DM}	-0.0436	-0.2999	-0.5201	-0.8603
Ambiente Permanente	σ^2_P	0.0430	0.1397	0.3085	0.4458
Varianza Total	σ^2_T	0.4246	3.8210	10.2570	14.3470
h^2_D		0.246	0.180	0.187	0.199
h^2_M		0.145	0.186	0.130	0.135
RG_{DM}		-0.534	-0.435	-0.341	-0.383
Repetibilidad	Γ_i	0.253	0.223	0.161	0.166
Coef. Var Genético**	**CVg %**	5.9 a 7.7	7.1 a 7.3	6.0 a 7.2	6.5 a 7.3

** Los errores estándar para h^2_D y h^2_M oscilaron entre 0.001 y 0.002. Para RG_{DM} y Γ_i entre 0.07 y 0.01*

***CVg =(desviación estándar genético/media del carácter)*100.*

El primer valor se refiere a efecto directo y el segundo a efecto materno.

Los resultados de la literatura sobre estos parámetros genéticos presentan una amplia variación, dependiendo de la raza y del sistema productivo. Otras estimaciones realizadas en esta misma raza y con el mismo sistema (Sierra y cols.,

1998), han presentado valores superiores y bastante homogéneos para h^2_D , h^2_M y RG_{DM} en una muestra mucho mas pequeña, y con una estructura más deficiente de estos mismo datos. Por el contrario Jurado y cols. (1987) trabajando con datos de un rebaño experimental de esta raza, mostraron valores muy inferiores para h^2_D , h^2_M para PV_{30} mientras que sus estimaciones de RG_{DM} fueron muy similares a los del presente estudio. El antagonismo entre efectos genéticos directo y maternos ha recibido mucha atención en la literatura, siendo achacado a una oposición (principalmente a nivel de hormonas hipofisarias) entre las vías metabólicas para la deposición de músculos y la de la producción lechera. Sin embargo estudios recientes demuestran que la mayor parte de las incoherencias encontradas se deben más a problemas de estructuras de los datos (pe desfase en la generación que aporta los datos para la estimación de cada efecto) que a la naturaleza del problema (Clement y col 2001), considerándose que generalmente estas estimaciones están sobrevaloradas.

Las estimaciones de r_g para PV_{30} , PV_{60} y PV_{75} fueron muy altas tanto para efecto directo (>0.90) como materno (>0.98) indicando que prácticamente son los mismos efectos genéticos los que determinan el carácter. Por el contrario la correlación genética entre el peso al nacimiento y el resto de pesos de referencia fue muy baja en el caso de los efectos genéticos directos y media-alta en el caso de los maternos (tabla 2). En tal sentido, serán necesarios otros estudios para conocer el origen de estos resultados y la posible influencia del sistema de tipificación, dado que el PV_0 es obtenido directamente mientras que los demás pesos son estimados a partir de los 2 pesos vivos más próximos (generalmente por interpolación entre ambas pesadas).

Tabla 2. Matriz de correlaciones genéticas* entre pesos vivo a diferentes edades, en Merino español.

	PV_0	PV_{30}	PV_{60}	PV_{75}
PV_0		0.159	0.196	0.119
PV_{30}	0.693		0.908	0.981
PV_{60}	0.727	0.986		0.986
PV_{75}	0.611	0.981	0.993	

** Correlaciones entre efectos genéticos directo encima de la diagonal, correlaciones entre efectos genéticos maternos por debajo. Los errores estándar oscilaron entre 0.001 a 0.07 para efecto directo y entre 0.002 a 0.10 para efecto materno.*

REFERENCIAS

Clemént V. B. Bibé, E. Verrier, J.M. Elsen , E. Manfredi, J. Bouix y E. Hanocq. 2001. *Genetics, Evolution Selection*. 33: 369-395.

Gilmour A. B. R. Cullis, S.J. Wellham y R. Thompson, 1998. *ASREML manual*. 161p.

Jurado J. R. Alenda, A. Alonso y A.Sánchez de la Blanca 1987. *38 Annual Meet. of EAAP. Lisboa*, Portugal, 7 pag.

Sierra A. J. Delgado, A. Molina, C. Barba, F. Barajas y A. Rodero 1998. *World Merino Conference*, 29-31 March, 1998, Chrischurch, New Zeland , 3 pag.

Valera M. F. Barajas, A. Rodero, A. Molina, A. Cámara, M. Migueles y J. J. Alvarez 2001. *Feagas* 20: 103-108.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 522-524

ANÁLISIS PRELIMINAR DE VARIABLES FISIOLÓGICAS Y DE VITALIDAD EN LECHONES F_2 IBÉRICO x MEISHAN

Casellas J.[1], Gómez-Raya L.[2], Piedrafita J.[1], Sánchez A.[1], Arqué M.[2] y Noguera J.L.[2]

[1]Unitat de Ciència Animal. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. UAB, 08193 Bellaterra (Barcelona).
[2]Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, 25198 Lleida.

INTRODUCCIÓN

El nacimiento es un momento crucial en la vida de los lechones, al tener que adaptarse rápidamente a un nuevo ambiente, ya que cualquier retraso puede implicar una desventaja importante a la hora de competir con el resto de hermanos por la leche, y reducir drásticamente la probabilidad de supervivencia (Christison et al. 1997). Esta adaptabilidad al ambiente externo se ha relacionado con la capacidad de termorregulación de los lechones (Herpin et al. 2002), pero existen otras variables fisiológicas, como la frecuencia cardiaca o la saturación arterial de oxígeno, que sufren cambios drásticos durante los primeros minutos de vida y que desafortunadamente son poco conocidos. Múltiples factores afectan al lechón y su metabolismo durante el periodo perinatal y, en este sentido, se ha descrito que la puntuación de viabilidad definida por Randall (1971) es un buen indicador de la asfixia sufrida durante el parto (Zaleski y Hacker 1993). Herpin et al. (1996) han relacionado el peso al nacimiento con la temperatura del lechón, pero no se ha estudiado la relación con otros factores como la presentación al parto, el orden de nacimiento o la asimetría fluctuante estimada en el reparto de las tetinas. Este trabajo pretende ahondar en el conocimiento de algunas variables fisiológicas potencialmente relacionadas con la vitalidad, como paso previo al análisis de la supervivencia de los lechones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se controlaron los partos de 108 cerdas primíparas F1 Ibérico x Meishan mantenidas en instalaciones y condiciones de manejo estándar. Para cada lechón se registró la presentación y el orden de nacimiento, y para determinar la Puntuación de Viabilidad (PV) se sumaron tres parámetros: tiempo hasta la aparición de la respiración, intentos para levantarse y tono muscular, puntuándolos de acuerdo con Zaleski y Hacker (1993). Esto implica una simplificación de la metodología descrita por Randall (1971), ya que al ser negros los lechones no se tuvo en cuenta el color de la piel, y la frecuencia cardiaca no se tomó en el momento de nacer sino entre 1 y 5 minutos después. Seguidamente se procedió a registrar la saturación arterial de oxígeno (SO1), la frecuencia cardiaca (FC1) y la temperatura rectal (TR1), anotando el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la obtención de la saturación (TO1). Estas mediciones se tomaron con un pulsioxímetro Vet/Ox® 4404 Monitor (Heska Corporation, Fort Collins, Colorado, USA), efectuando la monitorización de la frecuencia cardiaca y la saturación de oxígeno en la lengua. Posteriormente los lechones fueron pesados e identificados, y se depositaron nuevamente junto a la parte posterior de la cerda, para estimar el tiempo transcurrido entre el nacimiento y la llegada a las tetinas (TT), o el comienzo de la tetada (TM). Una hora después del parto, se tomaron nuevas medidas de la saturación de oxígeno (SO2), frecuencia cardiaca (FC2) y temperatura (TR2), y se registró el número de tetinas de cada lechón para calcular la asimetría direccional y fluctuante (Fernández et al. 2002).

En este estudio se han analizado las siguientes variables: FC1, FC2, SO1 ajustada a 90 segundos postparto mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS 1992) incluyendo el TO1 como covariable, SO2, TR1, TR2, TT, TM y PV. Para cada variable se ha creado un modelo preliminar, con dos efectos aleatorios, verraco (V_i) y cerdas dentro de verraco ($C_j(V_i)$), y once efectos fijos: peso al nacimiento (PN_k) dividido en 5 niveles, < 1 kg, entre 1 y 1,1 kg, entre 1,1 y 1,2 kg, entre 1,2 y 1,3 kg, y > 1,3 kg, puntuación de viabilidad (PV_l) con los valores 3 y 4 agrupados en un mismo nivel (los animales con valores inferiores a 3 murieron poco después de nacer al no llegar a respirar y no se les hizo la valoración pulsioximétrica), sexo del lechón (SX_m), presentación al parto (PR_n), orden de nacimiento

(ON_o) con 6 niveles, 1 y 2, 3 y 4, 5 y 6, 7 y 8, 9 y 10, y > 10, asimetría direccional (AD_p), asimetría fluctuante (AF_q), administración de oxitocina durante el parto (OX_r), tamaño de la camada (TC_s) con 4 categorías, < 7 lechones, entre 7 y 10, entre 11 y 14, y > 14, presencia de nacidos muertos (PNM_t) y presencia de momificados (PMM_u). Los modelos preliminares para todas las variables (Y), fueron:

$$Y_{ijklmnopqrstuv} = V_i + C_j(V_i) + PN_k + PV_l + SX_m + PR_n + ON_o + AD_p + AF_q + OX_r + TC_s + PNM_t + PMM_u + e_{ijklmnopqrstuv}$$

El modelo correspondiente a la PV no incluyó este parámetro como efecto fijo. Estos modelos se desarrollaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS 1992). Los efectos que no alcanzaron la significación estadística fueron eliminados de los modelos definitivos. Adicionalmente, se estimaron los componentes de varianza entre verracos (σ_v^2), entre cerdas dentro de verracos (σ_m^2) e intraprogenie (σ_e^2) con el procedimiento VARCOMP de SAS (SAS 1992). La heredabilidad se calculó según $h^2 = 4\sigma_v^2 / (\sigma_v^2 + \sigma_c^2 + \sigma_e^2)$ (Falconer y Mackay 1996), y su error típico fue estimado mediante la fórmula propuesta por Swiger (1964).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La significación de los diferentes efectos testados se muestra en la tabla 1. El peso al nacimiento influyó en todas las variables exceptuando FC1, FC2 y SO1. La puntuación de viabilidad mostró un comportamiento similar, descartándose de los modelos correspondientes a FC1, SO1 y SO2. Adicionalmente, el orden de nacimiento y la presentación al parto fueron significativos respecto a TM y PV respectivamente. Las variables fisiológicas sufren cambios importantes durante la primera hora postparto (tabla 2). Como promedio, la frecuencia cardiaca aumenta durante los 60 primeros minutos de vida, así como la saturación de oxígeno que alcanza valores cercanos al 95%, mientras que la temperatura rectal se reduce. Estos dos últimos resultados concuerdan con los hallazgos de Herpin et al. (1998 y 2001). Por otro lado, el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta la primera ingestión de calostro es prácticamente el doble que el tiempo utilizado para llegar a las tetinas, concordando con lo observado por Christison et al. (1997) y Tuchscherer et al. (2001).

Los lechones de menor peso (< 1 kg) mostraron valores más bajos en la saturación de oxígeno, temperatura y PV, mientras que necesitaron más tiempo para llegar a las tetinas y empezar a mamar. Resultados similares para la temperatura fueron descritos por Herpin et al. (1996, 2001 y 2002). La puntuación de viabilidad considerada como efecto fijo mostró un efecto similar, dado que los animales con puntuaciones bajas (3 o 4) alcanzaron peores valores en las variables fisiológicas y empezaron a mamar mucho más tarde. El promedio del TM es máximo para los primeros lechones de la camada (67,6 y 63,9 min) mientras que se reduce a medida que avanza el parto, llegando a 39,0 min para los lechones nacidos en las posiciones undécima y posteriores.

Finalmente, las estimaciones obtenidas de los componentes de varianza muestran una gran diferencia entre σ_v^2 y σ_m^2, siendo σ_m^2 claramente superior para todas las variables. Estas diferencias pueden deberse a que σ_m^2 incluye un componente de ambiente común y/o dominancia (Falconer y Mackay 1996). Desafortunadamente, las heredabilidades obtenidas a partir de σ_v^2 son muy bajas y la magnitud de su error estándar no permite que alcancen la significación estadística.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Christison G.I., Wenger I.I., Follensbee M.E., 1997. Can. J. Anim. Sci. 77: 317-319.

Falconer D.S., Mackay T.F.C., Introduction to quantitative genetics. Longman, Essex, England, 1996.

Fernández A., Toro M.A., Rodríguez C., Silió L., 2002. En: 7th World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod., Montpelier, comunicación 15-08.

Herpin P., Damon M., Le Dividich J., 2002. Livest. Prod. Sci. 78: 25-45.
Herpin P., Hulin J.C., Le Dividich J., Fillaut M., 2001. J. Anim. Sci. 79: 5-10.
Herpin P., Le Dividich J., Hulin J.C., Fillaut M., De Marco F., 1996. J. Anim. Sci. 74: 2067-2075.
Herpin P., Wosiak F., Le Dividich J., Bertin R., 1998. Res. Vet. Sci. 66: 45-49.
Randall G.C.B., 1971. Can. J. Comp. Med. 35: 141-146.
SAS, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1992.
Swiger L.A., Harvey W.R., Everson DO, Gregory KE, 1964. Biometrics 20: 818-826.
Tuchscherer M., Puppe B., Tuchscherer A., Tiemann U., 2000. Theriogenology 54: 371-388.
Zaleski H.M., Hacker R.R., 1993. J. Anim. Sci. 71: 298-305.

Tabla 1. Significación de los diferentes efectos para las variables analizadas (los factores que no han alcanzado la significación para ninguna variable se han excluido de la tabla).

	FC1	FC2	SO1	SO2	TR1	TR2	TT	TM	PV
Verraco	*	*	NS	*	*	*	NS	*	NS
Cerdas dentro de Verraco	***	*	*	*	***	***	***	***	***
Peso al Nacimiento	NS	NS	NS	*	*	***	**	*	***
Puntuación de Viabilidad	NS	**	NS	NS	***	***	***	***	
Presentación al Parto	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**
Orden de Nacimiento	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	***	NS

NS No significativo; * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001

Tabla 2. Número de animales analizados (N) y estadísticos estimados para las diferentes variables y niveles de los efectos fijos.

	FC1 (ppm)	FC2 (ppm)	SO1 (%)	SO2 (%)	TR1 (°C)	TR2 (°C)	TT (min)	TM (min)	PV
N	371	288	189	309	447	395	441	297	302
Media	147,0	221,0	76,8	95,1	38,0	36,9	24,2	42,0	5,7
Peso al Nacimiento (kg)									
< 1				94,3^{a}	37,8^{a}	35,6^{a}	33,8^{a}	61,1^{a}	5,5^{a}
1 – 1,1				96,2^{b}	38,0^{a,b}	36,6^{b}	22,8^{b}	47,7^{b}	5,8^{b}
1,1 – 1,2				95,0^{a,b}	38,2^{b}	36,5^{b}	23,0^{b}	52,0^{b}	5,8^{b}
1,2 – 1,3				96,8^{b}	38,0^{a,b}	36,5^{b}	26,5^{b}	45,7^{b}	5,8^{b}
> 1,3				97,4^{b}	38,2^{b}	36,5^{b}	22,0^{b}	48,6^{b}	5,8^{b}
Puntuación de Viabilidad									
3 ó 4		179,0^{a}			37,6^{a}	35,0^{a}	40,4^{a}	71,1^{a}	
5		212,8^{b}			38,2^{b}	36,7^{b}	20,1^{b}	50,1^{b}	
6		221,6^{b}			38,4^{c}	37,4^{c}	16,3^{b}	31,8^{c}	
σ^2	17,3	36,9		0,6	0,1	0,02		45,9	
σ^2	321,4	61,1	19,9	1,6	1,6	0,5	139,0	309,6	0,1
σ^2	1696,7	2179,8	159,3	27,2	0,6	1,9	487,9	652.1	0,3
	0,03	0,07		0,08	0,19	0,03		0,18	
Error est. (h^2)	0,06	0,09		0,10	0,14	0,06		0,13	

Las medias de mínimos cuadrados con la misma letra en el superíndice no difieren significativamente (P < 0,05)

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CYCIT AGL2000-1229-CO3.

EVALUACIÓN DE LA VARIABILIDAD GENETICA EN PEQUEÑAS POBLACIONES. UTILIZACIÓN DE CARACTERES CUANTITATIVOS EN LA OVEJA XALDA DE ASTURIAS

Juan Pablo Gutiérrez[1], Iván Fernández[2], Luis José Royo[2], Isabel Álvarez[2] y Félix Goyache[2*]

[1]Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040-Madrid; [2]SERIDA-CENSYRA-Somió, C/ Camino de los Claveles 604, 33203 Gijón (Asturias); *e-mail: fgoyache@serida.org

INTRODUCCIÓN

Los cambios en la variabilidad genética de las pequeñas poblaciones pueden estimarse mediante análisis de la información de pedigrí, mediante técnicas de biología molecular o mediante la utilización de caracteres cuantitativos (ROCHAMBEAU et al., 2000). Los cambios en las varianzas genéticas pueden caracterizar pérdidas de variabilidad genética (SORENSEN y KENNEDY, 1984). Sin embargo, en situaciones reales, la existencia de solapamiento generacional y la dificultad de decidir qué caracteres cuantitativos (productivos, reproductivos o adaptativos) son los más adecuados para ser utilizados limita la utilización de los caracteres cuantitativos en programas de conservación.

La oveja Xalda es una raza autóctona asturiana en peligro de extinción descrita desde los años 80 (ÁLVAREZ SEVILLA et al., 1982). Su Libro Genealógico se gestiona por la asociación de criadores ACOXA. Una descripción morfológica de la raza puede encontrarse en la página http://www.acoxa.org. ACOXA, junto con el SERIDA, pretende llevar a cabo un programa de conservación de la variabilidad genética de la raza que ha merecido la financiación del INIA mediante el proyecto RZ01-020. Análisis previos de la información contenida en el Libro Genealógico señalan la posibilidad de una selección morfológica de reproductores que puede provocar una pérdida de variabilidad genética (GOYACHE et al., 2003). El objetivo del presente trabajo es estimar la variabilidad genética existente en la raza Xalda mediante técnicas clásicas de información genealógica y mediante el análisis genético de la calificación morfológica como carácter cuantitativo para contribuir a diseñar estrategias de conservación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha analizado el Libro Genealógico de la Oveja de raza Xalda de Asturias con los datos actualizados hasta el 31 de diciembre de 2001. El Libro Genealógico cuenta con un total de 805 animales inscritos de los que 562 (507 hembras) estaban vivos. Un total de 754 animales (644 hembras) se calificaron morfológicamente de acuerdo con el patrón racial en una escala de 1 (suficiente) a 3 (excelente) por un solo calificador en el otoño de cada año. Los animales con padres desconocidos se calificaron a edad adulta mientras que el resto se calificó entre los 6 y los 12 meses de edad. Siguiendo a GUTIÉRREZ et al. (2003) se han calculado los coeficientes de consanguinidad (F) y tamaño efectivo de la población (N_e) para cada generación conocida, considerando una nueva generación cuando se conoce al menos un padre del individuo. Asimismo para caracterizar la información de pedigrí aportada por

cada individuo calculamos el equivalente a generaciones discretas (T) propuesto por WOOLLIAMS y MÄNTYSAARI (1995) como $\log_2 N$, siendo N el número de ancestros desconocidos en el pedigrí del individuo. La estimación de los componentes de la varianza de la calificación morfológica se realizó mediante un modelo animal utilizando el programa VCE (GROENEVELD y GARCÍA-CORTÉS, 1998). Se ajustó un modelo que incluía como efectos fijos: el rebaño, el año de calificación y la edad a la calificación. Las estimaciones se realizaron primero utilizando todos los registros disponibles de las calificaciones morfológicas de las hembras de la raza y después utilizando exclusivamente las calificaciones de las hembras con $T \geq 1$ (243). Siguiendo a MEYER y HILL (1991), cada grupo de registros se analizó utilizando toda la información de pedigrí disponible hasta la población base

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La consanguinidad media de la población Xalda es del 1,5%. La media de la calificación morfológica de las hembras de la raza es de 1,79 ± 0,65. La Tabla 1 caracteriza la raza Xalda como una pequeña población con escasa información genealógica. Como era de esperar F aumenta rápidamente con el mayor conocimiento de la genealogía. Se superan los valores medios de F en la generación 3. El rápido incremento de la consanguinidad provoca una drástica reducción de los tamaños efectivos. En cualquier caso la escasa profundidad del pedigrí no permite conocer de forma adecuada el ΔF en la población. La consaguinidad de la población viva indicaría un N_e de 28.4 (GOYACHE et al., 2003). La consanguinidad media de la población seleccionada ($T \geq 1$) es del 2,57% con lo que el tamaño efectivo calculado sería considerablemente menor (19,4).

La calificación racial en la raza Xalda presenta una heredabilidad moderada (Tabla 2) comprable con la encontrada para un carácter similar analizado previamente en la raza bovina Asturiana de los Valles (GUTIÉRREZ y GOYACHE, 2002). Los análisis realizados muestran como la varianza genética aditiva se reduce considerablemente en la población seleccionada mientras que la varianza fenotípica se mantiene en prácticamente los mismos valores. La selección morfológica puede haber inducido una pérdida de variabilidad genética en la raza. La estimación de los cambios en la varianza genética aditiva puede ser una interesante fuente de información sobre la variabilidad genética existente en la población antes de iniciarse los procesos selectivos y de la variabilidad genética remanente en la población seleccionada, que puede ser utilizada junto con los parámetros genealógicos clásicos. Esta aproximación es especialmente importante si tenemos en cuenta que la población seleccionada representa a la mayoría de los padres de la siguiente generación.

Los resultados obtenidos confirmarían la hipótesis de la existencia de una selección por tipo en la población Xalda. En la medida en que esta es una decisión consciente de los ganaderos, ACOXA puede promover, dentro de su programa de conservación, la utilización como reproductores de aquellos animales con mayor genético para calificación morfológica y que se encuentren poco representados genéticamente en la población. Visto que los sementales en activo tienen un alto índice de representación media (GOYACHE et al., 2003), este tipo de actuaciones correctoras pueden tener especial interés para la selección de hembras como madres de futuros sementales

Tabla 1: Número de animales y valores genéticos medios de consanguinidad (F), tamaño efectivo (N_e) y equivalente a generaciones discretas (T) por número de generaciones conocidas en la raza Xalda.

Generación	N	F (%)	N_e	T
0 (Población base)	249	0,00		0,00
1 (un padre conocido)	105	0,00		0,00
2 (un abuelo conocido)	188	1,40		0,39
3 (un bisabuelo conocido)	72	2,00	35,5	0,80
4 (un tatarabuelo conocido)	145	3,34	24,7	1,47
5 (un tátara-tatarabuelo conocido)	39	6,62	14,5	1,71
> 5 (Otros)	7	13,04	7,1	1,94

Tabla 2: Varianza genética aditiva ($Var_{(a)}$), varianza fenotípica ($Var_{(p)}$) y heredabilidad estimada para calificación racial en la oveja Xalda para todos los registros calificación de hembras disponibles y para las hembras que se considera han sido objeto de selección ($T \geq 1$)

Generación	$Var_{(a)}$	$Var_{(p)}$	h^2
Población completa	0,075	0,241	0,31
$T \geq 1$	0,049	0,230	0,21

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ SEVILLA, J.A., GARCÍA PELÁEZ, A., CORTÉS PÉREZ, J. 1982. Descripción de la oveja de raza Asturiana. Biol Cien Nat I.D.E.A., 30: 147-157.

GOYACHE F., GUTIÉRREZ J.P., FERNÁNDEZ I., GÓMEZ E., ALVAREZ I., DÍEZ J., ROYO L.J. 2003. Monitoring pedigree information to conserve the genetic variability in endangered populations: the Xalda sheep breed of Asturias as an example. Journal of Animal breeding and Genetics, 120, en prensa.

GROENEVELD, E., GARCÍA-CORTÉS, A., 1998. VCE4.0, a (co) variance component packages for frequentist and Bayesians. In: 6 th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, Australia 27, 455-458.

GUTIERREZ, J. P., GOYACHE, F., 2002. Estimation of genetic parameters of type traits in beef cattle. Journal of Animal breeding and Genetics, 119, 93-100.

GUTIÉRREZ J.P., ALTARRIBA J., DÍAZ C., QUINTANILLA R., CAÑÓN J. PIEDRAFITA J. 2003. Genetic analysis of eight Spanish beef cattle breeds. Genetics Selection Evolution, 35, en prensa.

MEYER, K., HILL, W.G. Mixed model analysis of a selection experiment for food intake in mice. Genetical Research, 57 (1991) 71-81.

ROCHAMBEAU, H. de, FOURNET-HANOCQ F., VU TIEN KHANG, J. 2001. Measuring and managing genetic variability in small populations. Annales de Zootechnie, 49: 77-93.

SORENSEN D.A., KENNEDY B.W. 1984. Estimation of genetic variance from selected and unselected populations. Journal of Animal Science, 63: 1213-1223.

WOOLLIAMS J.A. MÄNTYSAARI E.A. 1995. Genetic contributions of Finnish Ayrshire bulls over four generations. Animal Science, 61: 177-197.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 528-530

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE LA RAZA OVINA XISQUETA POR COMARCAS

R. Avellanet y J. Jordana

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

INTRODUCCIÓN

La raza Xisqueta es autóctona de Cataluña, donde se localiza mayoritariamente en las comarcas del Pallars Jussà, Pallars Sobirà y Alta Ribagorça, en zonas de pirineos y pre-pirineos de N-O de la provincia de Lérida. También existen algunos efectivos de la raza al sur de Lérida y en Huesca (Sánchez-Belda y Sánchez-Trujillano, 1986). La Xisqueta se caracteriza por ser una raza rústica, de aspecto resistente y muy activa, perfectamente adaptada a las condiciones trashumantes y pirenaicas, motivo por el cual resulta insustituible en las regiones donde se ubica.

Respecto a los caracteres regionales, tiene la cabeza pequeña y subconvexa; el cuello corto, muy fuerte y sin papada; el tronco ancho y robusto; y los miembros y aplomos cortos e intensamente musculados. Es de aptitud cárnica y como rasgo característico presenta una coloración blanca con pigmentación centrífuga en forma de manchas negras, excepcionalmente pardas o rojizas, en la punta de las orejas, alrededor de los ojos, labios y partes distales de las extremidades (Sánchez-Belda y Sánchez-Trujillano, 1986; Jordana y Jordana, 1995; Asociación Nacional de Criadores de Ovino de Raza Xisqueta, 2001).

No se conoce con certeza el censo de xisquetas, aunque en las últimas décadas ha sufrido una importante reducción, que actualmente se ve agravada por la elevada media de edad de los ganaderos y la baja continuidad generacional (Avellanet, 2002). Sin embargo, lo podemos estimar en algo más de 15.000 individuos con un elevado grado de pureza. Por ello, es necesario estudiar la raza a distintos niveles, tanto morfológico como hematológico, bioquímico y genético molecular, con el fin de poder establecer un programa de conservación y mejora de la raza. En el presente estudio se ha realizado la caracterización morfológica cuantitativa de la Xisqueta por comarcas, con el objetivo de analizar las posibles diferencias según la zona donde se localizan y, de este modo, que el plan de recuperación de la raza sea más preciso y útil.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el estudio se analizaron 304 animales adultos (>3 años), de los cuales 160 eran hembras y 144 machos. Para que la muestra fuera representativa de toda la región, se midieron 94 animales en la Alta Ribagorça (49 hembras y 45 machos), 99 en el Pallars Jussà (50 hembras y 49 machos) y 111 en el Pallars Sobirà (61 hembras y 50 machos), de manera que aproximadamente un tercio de las muestras correspondía a cada comarca.

En cada individuo se tomaron, con bastón zoométrico, compás de brocas y cinta métrica, 26 medidas morfológicas. Todas las mediciones fueron realizadas por una misma persona en el orden indicado en la Tabla 1. A partir de las variables morfológicas se calcularon 10 índices corporales (Tabla 2).

El análisis estadístico se realizó mediante estadística descriptiva (media y desviación típica) de todas las variables e índices a partir del paquete estadístico SAS (SAS, 1996). Para estudiar la influencia del efecto comarca sobre todas las variables e índices se realizó un Análisis de la Varianza (ANOVA), con el mismo programa estadístico.

Finalmente, se calculó la distancia de Mahalanobis entre comarcas para cada sexo, mediante el programa Statistica v.5. Posteriormente, y a partir de dichas distancias, se obtuvo un dendrograma para cada sexo (Figura 1), mediante el programa MEGA (Kumar et al., 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las hembras, existen diferencias estadísticamente significativas entre comarcas en 19 de las variables analizadas, es decir, dichas diferencias se encuentran presentes en el 73,1% de los casos. Las variables que no presentaron diferencias fueron la longitud y profundidad de la cabeza, los diámetros bicostal y entre encuentros y los perímetros de la rodilla, de la corona y del menudillo. En los machos, existen diferencias entre comarcas en 21 de las variables morfológicas, que equivale al 80,8% de los casos. Así pues, no mostraron diferencias entre comarcas las anchuras de la grupa y del cráneo y los diámetros longitudinal, bicostal y entre encuentros (Tabla 1).

En las tres comarcas, las medias de los parámetros biométricos son inferiores en hembras que en machos, excepto en la longitud de la oreja. Puede observarse que, en conjunto, tanto en hembras como en machos, las medias de los parámetros tomados en la Alta Ribagorça son superiores a las del Pallars Sobirà y que éstas, a su vez, son superiores a las del Pallars Jussà (Tabla 1). En ambos sexos dicha relación queda reflejada en el dendrograma obtenido a partir de las distancias de Mahalanobis entre las variables de las tres comarcas, mostrando una mayor relación entre la Alta Ribagorça y el Pallars Sobirà y, a su vez, de éstas con el Pallars Jussà (Figura 1). Las diferencias encontradas entre comarcas podrían atribuirse a los diferentes sistemas de manejo productivo y reproductivo predominantes según la zona. En la Alta Ribagorça se utiliza la trashumancia tanto de verano como de invierno y las ovejas reciben suplementación alimenticia en varias épocas, para fines reproductivos o según las condiciones ambientales, utilizándose las cubriciones controladas. En el Pallars Sobirà se practica la trashumancia de verano y el resto del año los pastos estantes, siendo la monta continua utilizada en aproximadamente la mitad de las explotaciones. En el Pallars Jussà la trashumancia de verano sólo se usa en la mitad de las explotaciones, el resto practica todo el año los pastos estantes y el sistema reproductivo predominante son las cubriciones controladas (Avellanet, 2002).

Se han detectado diferencias entre comarcas en seis de los índices corporales (excepto los índices pelviano, pelviano transversal, longitudinal y dactilo-costal) para las hembras, mientras que en los machos se han detectado diferencias en siete de los índices analizados (excepto los índices pelviano, torácico y dactilo-torácico) (Tabla 2). Observando los resultados de los índices corporales encontramos que, independientemente de la comarca, definen un mismo patrón racial.

Es decir, indican que la Xisqueta es una raza de proporciones longilíneas, con formato eumétrico, dolicocéfala y de grupa convexilínea.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asociación Nacional de Criadores de Ovino de Raza Xisqueta (2001):Comunicación personal.

Avellanet, R. (2002): *La raza ovina Xisqueta: Estudio biométrico y caracterización estructural de las explotaciones.* Tesina de Investigación. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona.

Jordana, J. y Jordana, J. (1995): La raza ovina Xisqueta: descripción, situación actual y perspectivas. *Avances en Alimentación y Mejora Animal.* Vol 35 (2), pp.: 11-18.

Kumar, S., Tamura, K., Jokobsen, I. B. y Nei, M. (2001): MEGA2. Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. Arizona State University. Tempe, Arizona, USA.

Sánchez-Belda, A. y Sánchez-Trujillano, M. C. (1986): *Razas Ovinas Españolas.* Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid.

SAS®. (1996): Institute Inc., SAS® User's Guide: Statistics. Versión 6.12. Cary, NY, USA.

AGRADECIMIENTOS

A los criadores de ovino de raza Xisqueta que han colaborado de forma activa y desinteresada en este proyecto. Al DARP de la Generalitat de Catalunya y al INIA (proyecto RZ01-003), que han financiado este estudio.

Tabla 1. Media y desviación típica (entre paréntesis) de los parámetros biométricos analizados en la raza ovina Xisqueta teniendo en cuenta la comarca y el sexo.

Comarca	Pallars Jussà		Alta Ribagorça		Pallars Sobirà	
Variable / Sexo	hembras	machos	hembras	machos	hembras	machos
Alzada Cruz	68,90b (3,18)	76,10b (3,71)	71,17a (3,71)	78,78a (3,62)	69,78b (3,11)	75,25b (4,12)
Alzada Dorso	68,03b (2,99)	74,28b (3,24)	70,28a (3,51)	76,62a (3,10)	69,17ab (2,89)	73,59b (3,53)
Alzada Grupa	68,61b (2,96)	75,06b (3,26)	70,92a (3,53)	77,08a (3,22)	70,07a (3,05)	74,78b (3,30)
Alzada Pelvis	69,26b (3,15)	76,03b (3,29)	71,58a (3,74)	77,82a (3,29)	70,77a (3,07)	75,45b (3,35)
Alzada Cola	65,57b (3,40)	71,73ab (2,79)	67,48a (3,51)	73,00a (3,35)	66,71ab (2,67)	71,24b (3,34)
Diámetro Longitudinal	66,61b (4,48)	74,19 (3,83)	68,74a (3,03)	73,23 (2,58)	67,49ab (3,39)	73,31 (2,74)
Diámetro Dorso-esternal	31,87b (2,39)	36,45a (2,42)	32,82a (1,67)	36,56a (1,75)	32,43ab (2,20)	35,5b (1,72)
Diámetro Encuentros	19,91 (1,63)	23,73 (1,85)	20,55 (2,21)	23,77 (2,51)	19,97 (1,34)	23,45 (2,22)
Diámetro Bicostal	26,88 (2,81)	28,18 (2,44)	26,6 (2,91)	27,38 (2,45)	26,14 (2,92)	27,69 (2,22)
Anchura Grupa	17,91b (1,63)	18,96 (1,84)	19,22a (2,46)	18,66 (1,26)	18,72a (1,65)	18,35 (1,39)
Longitud Grupa	20,18b (3,03)	23,07a (2,13)	21,50a (1,91)	23,00a (1,73)	21,11a (2,44)	21,73b (1,47)
Longitud Cabeza	24,93 (1,94)	27,81b (3,26)	25,71 (1,05)	28,87a (1,46)	25,33 (2,11)	28,12ab (1,93)
Profundidad Cabeza	14,35 (1,80)	17,91ab (2,24)	15,03 (1,39)	18,10a (1,93)	14,41 (1,14)	17,30b (2,05)
Longitud Cráneo	10,58a (1,67)	10,92a (1,58)	9,58b (1,08)	10,30b (1,39)	10,03b (1,40)	10,13b (1,26)
Longitud Cara	16,62b (2,15)	19,57b (2,21)	18,18a (1,85)	20,91a (1,67)	17,21b (1,78)	19,36b (2,00)
Anchura Cráneo	11,52c (0,88)	13,08 (0,93)	12,20a (0,71)	13,14 (1,04)	11,84b (0,69)	12,83 (0,93)
Anchura Cabeza	6,99a (0,80)	8,73a(1,22)	6,24b (0,61)	7,98b (1,02)	7,11a (0,88)	8,34b (1,04)
Perímetro Torácico	92,79b (6,39)	104,53b (4,62)	99,41a (6,16)	107,11a (6,36)	94,13b (5,05)	101,16c (5,51)
Perímetro Rodilla	13,62 (0,87)	16,17a (0,78)	13,83 (0,79)	16,22a (0,97)	13,77 (0,75)	15,71b (0,87)
Perímetro Caña	8,79ab (0,81)	10,21a (0,61)	8,92a (0,53)	10,40a (0,76)	8,61b (0,49)	9,93b (0,62)
Perímetro Menudillo	10,67 (0,99)	13,06a (1,84)	10,26 (0,79)	12,04b (1,41)	10,73 (1,06)	12,35b (1,27)
Perímetro Cuartilla	12,04b (0,99)	14,30a (1,01)	12,30a (0,85)	14,07ab (1,19)	11,89b (0,64)	13,73b (1,14)
Perímetro Corona	13,63 (1,28)	16,78a (2,17)	13,23 (1,13)	15,71b (1,49)	13,64 (1,18)	16,17ab (2,04)
Distancia Codo-rodete	14,62a (1,34)	15,72a (1,33)	13,51c (1,21)	14,58b (1,03)	14,17b (1,02)	14,76b (0,88)
Perímetro Corvejón	17,83b (1,12)	19,82b (1,62)	18,54a (1,01)	20,37a (1,42)	17,95b (1,21)	19,42b (1,22)
Longitud Oreja	11,74b (1,67)	11,61ab (1,71)	12,52a (1,34)	12,09a (1,14)	12,22ab (1,20)	11,25b (1,01)

(Letras diferentes en la misma fila indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre comarcas y por sexo)

Tabla 2. Media y desviación típica (entre paréntesis) de los índices corporales analizados en la raza Xisqueta teniendo en cuenta la comarca y el sexo.

Comarca	Pallars Jussà		Alta Ribagorça		Pallars Sobirà	
Indice / Sexo	hembras	machos	hembras	machos	hembras	machos
Cefálico	28,28a (4,77)	31,95a (6,23)	24,34b (2,72)	27,70c (3,78)	28,32a (5,45)	29,77b (4,01)
Pelviano	91,46 (21,30)	82,92 (12,29)	90,20 (15,36)	81,48 (7,55)	90,30 (17,22)	84,62 (6,07)
Torácico	**84,64a (9,69)**	**77,71 (9,05)**	**81,07b (7,75)**	**75,00 (7,08)**	**81,01b (9,35)**	**78,06 (5,90)**
Corporal	71,82a (4,92)	71,11a (4,45)	69,31b (3,74)	68,55b (3,76)	71,79a (3,39)	72,61a (3,64)
Profundidad Tórax	46,30 (3,75)	47,95a (3,23)	46,16 (2,09)	46,45b (2,13)	46,52 (3,24)	47,28ab (2,89)
Datilo-torácico	9,48a (0,71)	9,78 (0,58)	8,99b (0,58)	9,72 (0,66)	9,17b (0,62)	9,83 (0,61)
Craneal	111,20c (18,07)	122,06b (18,90)	129,27a (18,59)	130,20a (21,61)	120,23b (17,67)	128,92ab (17,74)
Pelviano Transversal	26,03b (2,49)	24,94a (2,46)	27,06a (3,66)	23,70b (1,49)	26,85ab (2,34)	24,43ab (2,02)
Pelviano Longitudinal	29,32 (4,60)	30,37a (3,07)	30,27 (2,80)	29,23ab (2,18)	30,28 (3,42)	28,94b (2,20)
Datilo-costal	32,92 (3,42)	36,51b (4,02)	33,84 (3,62)	38,22a (3,80)	33,33 (4,18)	**36,04b (3,12)**

(Letras diferentes en la misma fila indican la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre comarcas y por sexo)

Figura 1. Dendrograma obtenido, en ambos sexos, a partir de la distancia de Mahalanobis entre las variables morfológicas analizadas por comarcas.

CARACTERIZACIÓN DEL GEN DEL RECEPTOR DE LA PROLACTINA (*PRLR*) PORCINO

Anna Tomás[1], Marcel Amills[1], José Luís Noguera[2] y Armand Sánchez[1]

[1]Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària, UAB. Bellaterra 08193, Spain
[2]Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198, Spain

INTRODUCCIÓN

El receptor de la prolactina (*PRLR*) es un miembro de la superfamilia de los receptores de la hormona de crecimiento/prolactina/citoquina clase 1. La unión de la prolactina al *PRLR* desencadena la activación en cascada de múltiples mediadores --JAKS quinasas y proteínas STATs- (Bole-Feysot *et al.*, 1998) que, en última instancia, activan la transcripción de proteínas lactogénicas e incrementan la expresión de receptores de progesterona en útero y ovario. El gen *PRLR* humano está constituido por 11 exones presentando splicing alternativo del primer exón debido a la existencia de dos promotores alternativos tejido-específicos. El codón de iniciación de la traducción está situado en el exón 3. Se han descrito múltiples isoformas del *PRLR,* generadas por un mecanismo de splicing alternativo, que difieren fundamentalmente en la longitud del dominio intracelular (Bole-Feysot *et al.*, 1998). Ratones *knockout* para el gen *PRLR* son estériles debido a que se produce un fallo durante la implantación embrionaria. Las hembras heterocigotas presentan ciclos irregulares, fertilidad reducida, desarrollo embrionario deficiente (Ormandy *et al.*, 1997) y un comportamiento maternal alterado (Lucas *et al.* 1998). El gen *PRLR* porcino se localiza en el cromosoma 16 (Vincent *et al.*, 1997). Aunque se desconoce la secuencia completa del gen *PRLR* porcino, se han descrito dos polimorfismos asociados con diferencias en el tamaño de camada y el número de tetinas (Vincent *et al.* 1998 y Putnová *et al.* 2002). El objetivo de este estudio consiste en secuenciar la región codificante del gen *PRLR* porcino con la finalidad de encontrar nuevos polimorfismos y estudiar sus efectos sobre caracteres reproductivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. *Extracción de RNA total y síntesis de cDNA*

Se obtuvieron muestras de hígado correspondientes a 8 cerdos de las razas Ibérico, Landrace, Large White y Pietrain. El RNA total fue extraído utilizando *TRIZOL*® *Reagent* (Gibco BRL, Life Technologies) siguiendo las instrucciones del fabricante. La síntesis de cDNA se realizó mediante el kit *Thermoscript*® *RT-PCR* (Invitrogen) a partir de 1 1g de RNA total.

2. *Amplificación y secuenciación del cDNA PRLR*

Con el fin de amplificar el cDNA del gen *PRLR* porcino, se diseñaron tres pares de cebadores conservados tras alinear las secuencias ortólogas de cDNA de humano (AF416619), ratón (NM_011169), vaca (L02549) y conejo (J04510) disponibles en GenBank. La región codificante del gen fue amplificada en tres fragmentos de 386pb (exón2-5), 963pb (exón4-10) y 1157pb (exón10). Los productos de PCR se purificaron mediante el kit *Qia-Quick PCR purification KIT* (QiaGen) y se secuenciaron directamente mediante el kit *Big-Dye Terminator Cycle Sequencing v3.0* (Applied Biosystems). Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar *ABI Prism 310* (Applied Biosystems).

3. *Caracterización de Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) mediante Primer Extension Analysis*

Se amplificó un fragmento de 847pb correspondiente al exón 10 del gen *PRLR* mediante los cebadores PRLRe10-FW (5'-GGA GTT CCT GGA GGT GGA TGA-3') y PRLRe10-RV (5'-GTC TTT CGC AGC TGG AT T CT-3'). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen total de 15 µl y contenían 60 ng de ADN genómico, 0.2 µM de cada cebador, 100 µM dNTPs, 1.5 µM $MgCl_2$ y 0.6 U de EcoTaq polimerasa (Ecogen). La reacción fue desnaturalizada durante 5 min a 94°C y posteriormente sometida a 35 ciclos de desnaturalización (94°C, 1 min), hibridación (63,8°C, 1 min) y extensión (72°C, 1min). El producto amplificado fue purificado enzimáticamente mediante el kit *EXOSAP-IT* (Amersham Biosciences Europe GMBH). Los 3 polimorfismos del gen *PRLR* fueron genotipados simultáneamente mediante el kit *SNapSHOT multiplex reaction* (Applied Biosystems). Las reacciones de extensión se realizaron en un volumen total de 5µL que incluían 7.5pmol de PRLR1 (5'-AGC GTG GAA AGC AAG CTG C-3'), 3.75pmol de PRLR2 (5'-AAA TTC TTT GTC TCC CCT AAG CCC-3') y 7.5pmol de PRLR3 (5'-TTA ATA AAA TTA GAA GGG CAA CCG AGC AGA-3').

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación de la secuencia del gen *PRLR* porcino con las de genes ortólogos en otras especies mediante el programa BLASTN permitió demostrar que el cDNA *PRLR* porcino presenta una similitud nucleotídica del 88%, 86%, 84% y 80% con las secuencias bovina, leporina, humana y murina, respectivamente. El alineamiento de las secuencias *PRLR* de 8 individuos de las razas Landrace, Ibérico, Large White y Pietrain, permitió la identificación de 3 nuevos polimorfismos en el exón 10 (SNP1: T1217C, SNP2:T1528A y SNP3: G1439A). Dos de los polimorfismos (SNP1 y SNP3) están asociados a cambios aminoacídicos (SNP1: Leu/Pro en la posición 406 y SNP3: Arg/Lys en la posición 480) y, además, están situados en el dominio intracelular de la proteína, por lo que podrían tener interés desde un punto de vista funcional. En el caso Arg/Lys la sustitución aminoacídica es conservativa; sin embargo, la sustitución de una Leucina por una Prolina supone un cambio de un hidrocarburo saturado (Leu) a un anillo de pirrolidina (Pro) en la cadena lateral, lo que puede restringir la geometría de la proteína al introducirse un cambio brusco en la dirección de la cadena (Rawn, 1989).

Se ha diseñado un método de genotipado simultáneo para las tres mutaciones nucleotídicas basado en la técnica *Primer Extension Analysis Multiplex*. Mediante esta técnica se han genotipado 83 animales pertenecientes a distintas razas

porcinas y se han calculado las frecuencias alélicas de cada uno de los polimorfismos (Tabla 1).

Dado que la prolactina y su receptor juegan un papel crucial en la reproducción resultaría de gran interés realizar un estudio de asociación entre los polimorfismos del gen *PRLR* y caracteres reproductivos de importancia económica como el ritmo reproductivo, la prolificidad, el comportamiento y la capacidad maternal y la supervivencia embrionaria. Con dicha finalidad se están analizando 424 individuos pertenecientes a un cruce F2 entre la raza Ibérica y la hiperprolífica Meishan.

TABLA1. Frecuencias alélicas de los polimorfismos del gen *PRLR* en distintas razas porcinas

RAZAS	SNP1		SNP2		SNP3		N
	ALELO 1	*ALELO 2*	*ALELO 1*	*ALELO 2*	*ALELO 1*	*ALELO 2*	
Cerdo Ibérico	0.03	0.97	1	0	0.8	0.2	15
Landrace	0.53	0.47	0.47	0.53	0.44	0.56	17
Large White	0.13	0.87	0.87	0.13	0.83	0.17	15
Meishan	1	0	0.24	0.76	0	1	21
Pietrain	0.38	0.62	0.65	0.35	0.59	0.41	17

BIBLIOGRAFIA

1. Bole-Feysot, C.; Goffin, V:; Edery, M.; Binart, N. y Kelly, P.A. 1998. *Endocrine Reviews* 19: 225-268.
2. Hu, Z. Z.; Zhuang, L.; Meng, J.; Leondires, M. y Dufau, M. L., 1999. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84:1153-1156.
3. Lucas, B. K.; Ormandy, C. J.; Binart, N.; Bridges, R. S y Kelly, P.A., 1998. *Endocrinology* 139:4102-7.
4. Ormandy, C.J.; Camus, A.; Barra, J.; Damotte, D.; Lucas, B.; Buteau, H.; Edery, M.; Brouchard, N.; Babinet, C.; Binart, N. y Kelly, P.A.1997. *Gene dev.* 11: 167-178
5. Putnová, L.; Knoll A.; Dvorak, J. y Scepica, S., 2002. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 119: 57-63
6. Rawn, J. D., 1989. *Bioquímica*. Interamericana Mc Graw Hill (Ed). Vol I: 54-58
7. Vincent, A. L.; Wang, L.; Tuggle, C. K., Robic, A. y Rothschild, M. F. 1997. *Mammalian Genome* 8: 793-794.
8. Vincent, A. L.; Evans, G.; Short, T.H.; Southwood, O. I. y Plastow, G.S., 1998. *Proceedings 6th World Cong. Genet. App. Liv. Prod.* 27:15-18.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II. 534-536

PRIMEROS ESTUDIOS DE CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LA RAZA BOVINA MALLORQUINA.

I. Martín-Burriel, R. Osta, G. Puigserver, C. Rodellar, P. Zaragoza.
Laboratorio de Genética Bioquímica.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Mallorquina se encuentra en un estado de riesgo crítico. Según información de la SERGA, el censo de esta población en 1999 consistía en 90 hembras y 15 machos reproductores repartidos en 12 rebaños. Criada en la Isla de Mallorca, esta raza desciende del tronco Rojo Convexo.

En el trabajo que presentamos hemos analizado un panel de 30 marcadores microsatélites, estandarizados y recomendados por el proyecto europeo ResGen (http://www.andrologus.vet.uu.nl/RESGEN) en una muestra de esta población. Los resultados en cuanto a variabilidad genética los hemos comparado con aquellos obtenidos por nuestro grupo, utilizando la misma batería de marcadores, en otras razas autóctonas, algunas de ellas pertenecientes al mismo tronco evolutivo como la Pirenaica o la Menorquina. Finalmente se han calculado distintos valores de distancia genética entre la Mallorquina y estas otras poblaciones autóctonas, los árboles filogenéticos y el cálculo del tiempo de divergencia entre poblaciones a partir de la distancia D_{TL}.

MATERIALES Y METODOS

Se eligió una muestra aleatoria de 28 animales pertenecientes a la raza Mallorquina. A partir de muestras de sangre se obtuvo el ADN genómico utilizando metodologías convencionales y se analizaron los 30 microsatélites estandarizados y recomendados por el Proyecto Europeo ResGen (http://www.andrologus.vet.uu.nl/RESGEN). Los distintos alelos se identificaron mediante PCR radiactivo. Junto a estos animales, se analizaron muestras control que nos han permitido utilizar una nomenclatura estandarizada, de forma que en un futuro se pueda comparar esta población con otras razas bovinas europeas.

Para el análisis de los datos se han utilizado distintos paquetes estadísticos. De esta forma se han estimado distintas medidas de variabilidad genética (número medio de alelos por locus, heterocigosidades y porcentage de loci porlimórficos) con el programa BIOSYS-1 (Swoford y Selander, 1989), Equilibrio Hardy-Weimberg y desequilibrio genotípico con el programa Genepop 3.1 (Raymond y Rousset, 1995). Estos valores se compararon con los obtenidos por nuestro grupo en distintas razas bovinas autóctonas (Menorquina, Pirenaica, de Lidia, Casta Navarra y Betizu). Además se utilizó el programa Bottleneck (Pyri et al., 1999) el cual determina si la población ha sufrido una disminución reciente en su tamaño efectivo.

La diferenciación genética con el resto de las razas autóctonas analizadas con anterioridad se realizó mediante test exacto (GENEPOP: Raymond y Rousset, 1995) y mediante el cálculo de los valores de distancia genética Da (Nei et al., 1983). Esta distancia, calculada mediante el programa MICROSAT " (Minch, 1997), se utilizó para la construcción de árboles filogenéticos por el método de Neighbour Joining (Satiou y Nei, 1987) y el UPGMA (Sneath y Sokal, 1973).

Finalmente se realizó el cálculo del tiempo de divergencia entre poblaciones a partir de la distancia D_{TL} (Tomiuck y Loeschcke, 1991 y 1995) según Kantanen et al. (2000).

RESULTADOS

Variabilidad genética

La muestra de bovino Mallorquino analizado mostró un 90% de loci polimórficos con un número medio de alelos por locus de 3,3. La Tabla 1 muestra estos valores de variabilidad comparados con los obtenidos en otras razas autóctonas. Como resultados más significativos podemos destacar que mientras dos microsatélites INRA32 y SPS115 no presentaron polimorfismo en esta raza, en el marcador TGLA122 se ha observado un alelo específico de esta población (145pb) con una frecuencia de 46,4%. Un fenómeno similar fue observado en el marcador INRA23 donde el alelo de 198pb muestra una frecuencia relativamente alta (44,6%) cuando lo comparamos con el resto de poblaciones (de 0,00 a 0,05%).

Tabla 1: Valores de variabilidad genética de la raza Mallorquina comparados con los valores obtenidos en otras razas autóctonas. El error estándar se muestra entre corchetes.

	Mallorquina	**Otras razas**
Nº alelos/locus (n_a)	3,3 (0,2)	5,3 – 6,8
% loci polimórficos	90	96 – 100
Heterocigosidad Observada	0,519 (0,048)	0,475 – 0,683
Heterocigosidad esperada	0,495 (0,042)	0,554 – 0,693

Todos los loci analizados se mostraron en equilibrio Hardy-Weinberg excepto el locus MM12E6 (p= 0,009). Aunque la distribución de frecuencias alélicas móstro una forma de L normal (los alelos con frecuencias bajas [<0,1] son los más frecuentes), se observó un porcentaje de loci con exceso de herocigotos (21) superior al esperado (15,93), esta diferencia fue significativa (p=0,01) cuando se utilizó el test de Wilcoxon (Cornuet y Luikart et al. 1996).

Diferenciación poblacional

Cuando se utilizó el test exacto para la diferenciación génica y genotípica, esta población mostro valores de p altamente significativos cuando se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas con el resto de poblaciones autóctonas.

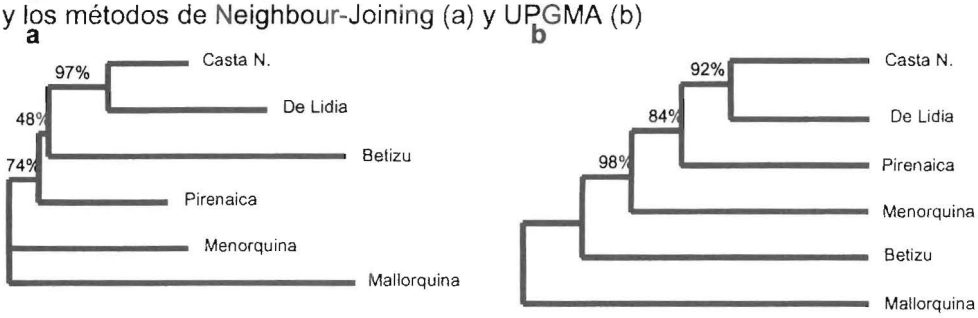
La Tabla 2 muestra los valores de Da obtenidos entre Mallorquina y el resto de las poblaciones autóctonas. Esta población muestra los mayores valores de distancia genética, siendo la población más próxima la raza Pirenaica. Los árboles filogenéticos obtenidos con estos valores de distancia muestran a esta población claramente diferenciada del resto, siendo las razas más próximas genéticamente la Menorquina y la Pirenaica (véase Figura 1).

El tiempo de divergencia estimado entre esta raza y el resto de poblaciones autóctonas, basándonos en los valores de Dtl se encuentra entre 632 generaciones con la raza Pirenaica (aprox. 3250 años) y 939 con la Betizu (aprox. 4696 años).

Tabla 2: Valores de distancia Da entre la población Mallorquina y el resto de razas autóctonas.

	Casta Nav.	Betizu	Pirenaica	De Lidia	Menorquina
Mallorquina	0,239	0,3347	0,2363	0,2750	0,2460

Figura 1: Arboles filogenéticos obtenidos a partir de los valores de distancia Da y los métodos de Neighbour-Joining (a) y UPGMA (b)



DISCUSIÓN

Aunque esta raza muestra valores de variabilidad menores que los observados en otras razas autóctonas (n_a y porcentaje de loci polimórficos), la heterocigosidad observada fue ligeramente superior a la esperada en el equilibrio y con valores que se incluyen dentro del intervalo observado en las razas con las que se ha comparado esta población. Esto, unido al alto número de loci con exceso de heterocigotos, puede ser consecuencia de una reducción reciente del tamaño de la población.

La gran diferenciación de esta población se muestra por los altos valores de distancia genética obtenidos. Así los valores de tiempo de divergencia obtenido con el resto de las poblaciones se encuentra claramente sobrestimado. Las poblaciones más próximas genéticamente son aquellas que provienen del mismo tronco filogenético (Pirenaica y Menorquina). La reducción del tamaño efectivo de esta población, así como el aislamiento geográfico de la misma ha podido contribuir a estos valores tan elevados de diferenciación.

AGRADECIMIENTOS

C. Cons y L. Bericat por el apoyo técnico.

REFERENCIAS

Cornuet y Luikart et al. 1996. Genetics 144: 2001-2014.
Tomiuck y Loeschcke, 1991 Evolution 45: 1685-1694.
Tomiuck y Loeschcke, 1995 Heredity 74: 607-615.
Kantanen et al. (2000) J Hered 91: 446-475.
Sneath y Sokal, 1973 Numerical Taxonomy. San Francisco, CA. WH Friedman & Co.
Satiou y Nei, 1987 Mol Biol Evol 4: 406-425.
Minch, 1997 MICROSAT 1.5b Standford CA: Standford University.
Nei et al., 1983 J Mol Evol 19: 153-170.
Raymond y Rousset, 1995. J. Hered 86.248-249.
Swoford y Selander, 1989. BIOSYS-1 Release 1.7, Champaign, IL: Illinois Natural History Survey.
Pyri et al. 1999. J Hered 90: 502-503.

ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL EN POBLACIONES ASNALES

J.A. Aranguren-Méndez[1,2], A. Beja-Pereira[3], R. Avellanet[1], K. Dzama[4] y J. Jordana[1]

[1]Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Veterinària. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Bellaterra, 08193. Barcelona.
[2]Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Producción Animal. Maracaibo 4001-A. Venezuela.
[3]Centro de Estudos de Biodiversidade, ICETA-Universidade do Porto, Campus Agrario de Vairão, 4485 661 Vairão, Portugal.
[4]Department of Paraclinical Veterinary Studies, University of Zimbabwe, P.O.Box MP 167, Mount Pleasant, Harare, Zimbabwe.

INTRODUCCIÓN

Trabajos previos, realizados a partir del análisis de marcadores moleculares de ADN del tipo microsatélite, permitieron realizar estudios de la estructura poblacional y las relaciones filogenéticas existentes entre cinco razas asnales de la península ibérica (Aranguren-Méndez y col. 2001, 2002a, 2002b). De forma general, los resultados mostraron que las cuatro razas asnales de capa negra del Norte de España (Catalana, Encartaciones, Mallorquina y Zamorano-Leonesa) formaban un grupo más o menos sólido, mientras que la raza Andaluza se relacionaba más estrechamente con la población de Asnos de Marruecos, soportando la teoría de un hipotético origen africano a partir del *Equus asinus africanus*. Sin embargo, los valores relativamente bajos de bootstrap reflejaban una cierta inestabilidad de la topología.

El principal objetivo de este estudio fue determinar la variabilidad genética y las relaciones existentes entre las razas asnales españolas, a partir del análisis de dos regiones conocidas del ADN mitocondrial, específicamente, una porción del gen del citocromo b y otra del D-loop. Para ello, además de las cinco razas peninsulares y la población Asno de Marruecos, se adicionó en el análisis una sexta raza asnal española, oriunda del archipiélago canario, la raza Majorera; así como, individuos de otra población asnal africana, el Asno de Zimbabwe, con el objetivo de que nos ayudaran a aclarar las relaciones filogenéticas entre estas razas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se extrajo ADN (genómico y mitocondrial) a partir de muestras sanguíneas de un total de 91 individuos muestreados al azar. 71 correspondían a las seis razas españolas: AND Andaluza (n=20), CAT Catalana (n=10), ENC Encartaciones (n=11), MAJ Majorera (n=10), MALL Mallorquina (n=10) y ZAM Zamorano-Leonesa (n= 10). Adicionalmente se obtuvieron 20 muestras de asnos africanos, de dos diferentes localizaciones: MOR Marruecos (n=9) y ZIM Zimbabwe (n=11). Estos se incluyeron como genuinos representantes del *E.a.africanus* y del *E.a.somaliensis*, respectivamente. Las secuencias publicadas del caballo (*E.caballus*), obtenidas del GenBank (nº de acceso X93337), se incluyeron en los análisis filogenéticos como un outgroup.

Los "primers" (oligonucleótidos) para la PCR de la región hipervariable del D-loop se diseñaron en base a la secuencia del ADNm de asno almacenada en el GenBank (Xu y col., 1996). Estas secuencias amplificaron un fragmento de 383 pb entre los sitios nucleotídicos 15387 y 15769. Asimismo se amplificó un fragmento de 312 pb de la región del citocromo b, entre los sitios nucleotídicos 14391 y 14703. Las condiciones de PCR, la secuenciación de sus productos, mediante un secuenciador automático (ABI Prism 310 DNA sequencer), y el análisis de los mismos mediante el software de secuenciación Genescan, así como el análisis de todos los estadísticos de diversidad mitocondrial, utilizando para ello los

programas Clustal-X, ARLEQUÍN, MEGA, NTSYS y REAP, están descritos en Aranguren-Méndez (2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del análisis de dichas regiones se obtuvieron 6 haplotipos para el citocromo b (SPAN-1 a SPAN-6) y 7 para el D-loop (ATI-1 a ATI-7). La región que aportó más información acerca de la diversidad genética entre las razas fue la D-loop, por lo que únicamente nos centraremos en ella. En la Tabla 1 se muestran las frecuencias de los haplotipos del D-loop en las 8 poblaciones analizadas. Cabe destacar que 4 de los 7 haplotipos estuvieron presentes únicamente en una o dos razas, y que ninguno se presentó en todas las razas a la vez. Los haplotipos más frecuentes, tanto en las razas españolas como africanas, fueron ATI-1 y ATI-3, presentes en 7 y 5 de las 8 poblaciones totales, respectivamente, resultando ser además los más ancestrales. Las relaciones entre estos 7 haplotipos se muestran en la Figura 1, pudiéndose observar dos grupos claramente definidos. El grupo formado por ATI-2, ATI-4, ATI-6 y ATI-7 se presentó únicamente en razas españolas. La diversidad nucleotídica (π) osciló entre 0,0006 para la raza Catalana y 0,0169 para la raza Andaluza.

A partir de los estadísticos de diversidad se calcularon las divergencias nucleotídicas (d_A) y las substituciones nucleotídicas (d_{XY}) entre poblaciones, las cuales nos dan una estimación de la distancia genética existente entre grupos. En la Figura 2 se puede observar el dendrograma obtenido a partir de los valores d_{XY} mediante el algoritmo neighbour-joining (NJ), que muestra unas relaciones totalmente incongruentes con la distribución geográfica de las razas y con las relaciones obtenidas con marcadores microsatélites. La raza Encartaciones es claramente excepcional al clusterizar sola, así como la agrupación de las dos poblaciones africanas con las razas Catalana y Mallorquina, al menos desde el punto de vista geográfico. Los efectos del tipo "cuellos de botella" o "efectos fundadores" podrían ser la explicación más plausible para comprender la inesperada y marcada separación existente entre la raza ENC con respecto a las demás razas españolas.

Otro hallazgo importante es la estrecha similitud o relación que presentan las razas Andaluza y Majorera. Ambas razas comparten la gran mayoría de haplotipos, tanto de citocromo b como de D-loop, y poseen dos haplotipos privados (SPAN-3 y ATI-5), presentes únicamente en estas dos razas. Estos resultados nos sugieren un posible origen ancestral común o un gran intercambio de reproductores entre ellas.

A modo de conclusión, los resultados obtenidos a partir del análisis del ADNm parecen indicar que el origen evolutivo del asno español podría derivarse de un único y común tronco ancestral con las razas africanas estudiadas. O bien que, procediendo de dos troncos ancestrales, las actuales razas españolas serían producto de una mezcla de diferentes líneas maternas como consecuencia de la gran afluencia africana que ha tenido España, directa o indirectamente, a través de los siglos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aranguren-Méndez, J.A. (2002). Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.

Aranguren-Méndez, J.A., Jordana, J. and Gómez, M. (2001). *Genetics, Selection, Evolution*, 33, 433-442.

Aranguren-Méndez, J.A., Gómez, M. and Jordana, J. (2002a). Heredity, 89, 3, 207-211.

Aranguren-Méndez, J.A., Jordana, J. and Gómez, M. (2002b). Journal of Animal Breeding and Genetics, 119, 256-263.

Xu, X., Gullberg, A. and Arnanson, U. (1996). Journal of Molecular Evolution, 43, 438-446.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT (AGF98-0503) y el DARP de la Generalitat de Catalunya.

Tabla 1. Frecuencias de los 7 haplotipos del D-loop mitocondrial observados en las 6 razas asnales españolas y las 2 poblaciones africanas.

Haplotipo	AND (20)*	CAT (10)	ENC (11)	MAJ (10)	MALL (10)	ZAM (10)	MOR (9)	ZIM (11)	Total (91)
ATI-1	0.20	0.90	—	0.20	0.70	0.80	0.78	0.91	0.517
ATI-2	0.30	—	—	0.30	—	0.20	—	—	0.121
ATI-3	—	0.10	0.09	—	0.30	—	0.22	0.09	0.088
ATI-4	0.10	—	—	—	—	—	—	—	0.022
ATI-5	0.40	—	—	0.50	—	—	—	—	0.143
ATI-6	—	—	0.82	—	—	—	—	—	0.099
ATI-7	—	—	0.09	—	—	—	—	—	0.010

* Número de animales analizados para cada población.

Figura 1. Dendrograma N-J para los 7 haplotipos del D-loop, con la secuencia de caballo como outgroup. Los números en las bifurcaciones representan el porcentaje de 1.000 replicaciones bootstrap

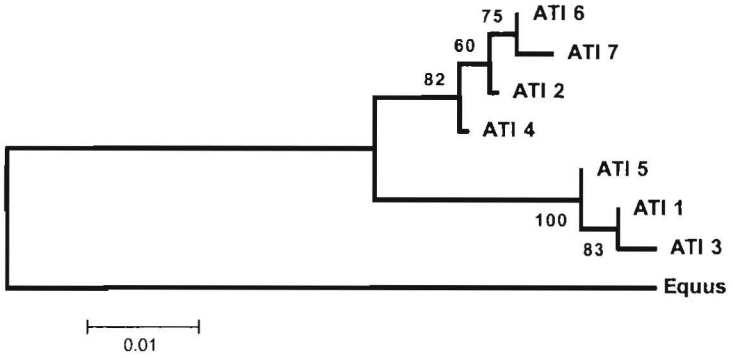
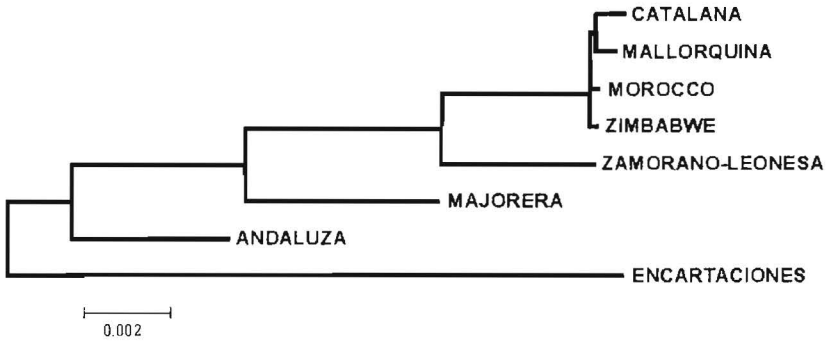


Figura 2. Dendrograma NJ para las seis razas asnales españolas y las dos poblaciones africanas, basadas en el número medio de substituciones nucleotídicas entre poblaciones (d_{XY}).



LA MIOSTATINA COMO PROTEÍNA DOMINANTE NEGATIVA: SU INTERACCIÓN *IN VITRO* MEDIANTE LA ESTRATEGIA DE *PULLDOWN*.

Fernández, C., Delgui, L., Cañón, J., Dunner, S.
Laboratorio de Genética Molecular, Dpto. Producción animal, Facultad de Veterinaria, UCM, 28040 Madrid, España

INTRODUCCIÓN

La hipertrofia muscular (HM) es un carácter descrito en las especies murina y bovina (donde también es conocido como *cularidad*) que provoca, como característica más sobresaliente, un incremento generalizado de la masa muscular del animal. El origen de la hipertrofia muscular se encuentra en la miostatina, proteína perteneciente a la familia de los TGFβs (McPherron *et al.*, 1997) que actúa como regulador negativo del crecimiento muscular (Thomas *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 2001), siendo algunas mutaciones en el gen (como la deleción 11 bovina –Grobet *et al.*, 1997) responsables del crecimiento característico de la hipertrofia muscular. De forma análoga a otros TGFβs, la miostatina actúa en forma de dímeros unidos entre sí por un puente disulfuro intercatenario. La unión del dímero a su receptor específico de membrana desencadena la cascada de reacciones intra-celulares por medio de las cuales se controla el desarrollo del tejido muscular. Cuando esa interacción no se produce, el crecimiento muscular se descompensa y aparece el fenotipo hipertrófico.
En la especie bovina, todas las mutaciones de la miostatina descritas hasta el momento (Cappuccio *et al.*, 1998; Grobet *et al.*, 1998) son recesivas (lo que quiere decir que sólo los animales homocigotos mutantes muestran el carácter) de tal forma que la obtención de un 100% de descendencia hipertrófica sólo se puede conseguir cruzando dos animales con hipertrofia muscular entre sí. Dada la importancia económica de estos animales, con una proporción superior de carne de primera, merced a un despiece carnicero especial y al elevado precio de cotización que alcanzan en el mercado, resulta muy interesante intentar conseguir 'heterocigotos culones" en primera generación como resultado del cruce entre un animal hipertrófico y uno normal. Esto tiene un indudable interés en el caso de cruzamientos industriales tanto de razas de aptitud carnicera, como de razas lecheras.
Aprovechando la propiedad de los TGFβs, que actúan como dímeros, se ha desarrollado una estrategia dirigida a generar moléculas de miostatina dominante negativa (permitiendo la producción de heterocigotos "culones"). Se han propuesto tres mutaciones capaces de generar moléculas de miostatina potencialmente dominantes negativas (Barroso *et al.*, 2000):
1) Diana de proteolisis (PS): se mutagenizan tres de los cuatro aminoácidos que conforman la diana de proteolisis, cuya rotura daría lugar a la liberación del péptido bioactivo. Esto evita la unión de los heterodímeros al receptor de membrana por simple impedimento estérico, al seguir unidos el péptido bioactivo y el péptido latente.
2) Codon Stop (STOP): la sustitución de los dos primeros codones Stop por un triptófano y una lisina alarga la proteína en un 27%. De esta manera se pretende evitar la unión de los heterodímeros al receptor, por impedimento estérico.
3) C340: la introducción de un fragmento de 22 aminoácidos que contiene en su interior una segunda cisteína de interacción intercatenaria (C^{340}) incrementa tanto la longitud del monómero como la probabilidad de formación de trímeros, y por lo tanto,

la probabilidad de un impedimento estérico de unión al receptor de membrana aumenta.
Como paso previo a la experimentación en células madre embrionarias se ha llevado a cabo la realización de un ensayo *in vitro* (*pull-down*) que proporciona una idea del grado de interacción de cada una de las moléculas mutantes con la molécula normal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se generaron tres construcciones diferentes para cada una de las mutaciones propuestas, en las que la mutagénesis de la zona de interés se realizó mediante la técnica de *overlapping* (Ho *et al.*, 1989) basada en la PCR, excepto en el caso de la construcción C340, donde la inserción del fragmento adicional se llevó a cabo mediante técnicas de restricción y ligado convencionales.
Los fragmentos, precedidos por un codon de inicio ATG y una secuencia Kozak, se insertaron en un plásmido de expresión bajo la acción del promotor T7 (pSG5, Stratagene). Por otro lado, una copia de la región bioactiva de la miostatina salvaje se introdujo en un vector de expresión procariota, controlado por el promotor T7 y que incorpora en 5' un ATG, una secuencia Kozak y un *tag* de 6 histidinas (pRSET, Invitrogen). La producción de moléculas de miostatina salvaje unidas al *tag* de histidinas, se llevó a cabo transformando una cepa de *E. coli*, inducible bajo IPTG (BL21(DE3)pLysS, Novagen), y la miostatina de fusión presente en el lisado de este cultivo se inmovilizó, mediante las histidinas adyacentes, a una resina de Ni^{2+} (Agarosa-NiNTA, Quiagen) siguiendo los protocolos descritos por el fabricante.
La traducción de las tres construcciones de las moléculas dominantes se llevó a cabo en el sistema de reticulocitos de conejo "TNT Coupled Reticulocyte Lysate System" (Promega), que proporciona un ambiente celular eucariota adecuado; las proteínas producidas se marcaron con ^{35}S-Met (Pharmacia). El proceso de interacción entre la miostatina salvaje de fusión y cada una de las proteínas mutantes se realizó a 4°C durante dos horas en continua rotación, seguido de dos lavados en PBS para eliminar toda proteína que no hubiera interaccionado con el complejo miostatina salvaje-resina. Tras la recuperación de la resina por centrifugación, se sometió cada una de las tres interacciones a una electroforesis en un gel de poliacrilamida SDS-PAGE. Los geles se expusieron a placas de autorradiografía y finalmente se revelaron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la expresión de las distintas construcciones mutantes en el sistema de reticulocitos, y su interacción con la miostatina salvaje de fusión, se muestran en la figura 1.
Como se puede observar, el lisado de reticulocitos muestra una banda cercana a 15 KDa para las construcciones STOP y C340, a la altura esperada para proteínas de 138 y 131 aminoácidos respectivamente y para la construcción PS aparece una banda de alrededor de 45 KDa, como corresponde a una proteína de 375 aminoácidos.
En cuanto a los resultados de interacción, en las tres construcciones aparecen las mismas bandas después de la interacción con la resina y posteriores lavados, lo que demuestra la capacidad de las tres proteínas mutantes de interaccionar con la miostatina salvaje.

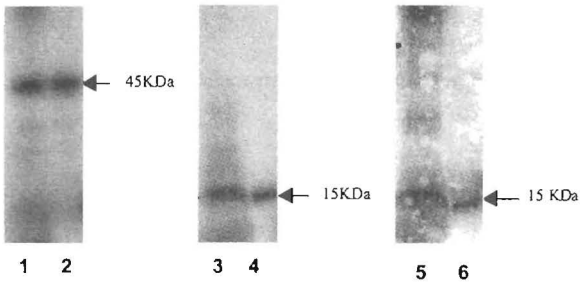


Fig 1.: **1.** PS (reticulocitos); **2.** PS (resultado de la interacción); **3.** STOP (reticulocitos); **4.** STOP (interacción); **5.** C340 (reticulocitos); **6.** C340 (interacción).

Este resultado aporta una primera evidencia de la capacidad de las tres proteínas mutantes descritas de formar heterodímeros con la miostatina salvaje, requerimiento imprescindible en una estrategia de dominancia negativa, y permite iniciar el siguiente paso consistente en un ensayo del comportamiento de moléculas mutantes de miostatina en cultivos de mioblastos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PROFIT nº FIT-010000-2001-29.

BIBLIOGRAFÍA

Barroso, A., Royo, L., Cañon, J., Dunner, S., 2000. "La hipertrofia muscular hereditaria: génesis de alelos dominantes negativos de la miostatina (GDF-8) murina". *ITEA*, 96: 191-198.

Cappuccio, I., Marchitelli, C., Serracchioli, A., Nardone, A., Filippini, F., Ajmone-Marsan, P. & Valentini, A 1998. "A G-T transversion introduces a stop codon at the mh locus in hypertrophyc Marchigiana beef subjects". *Animal Genetics* **29** (Suppl. 1): 51.

Grobet, L., Royo, L., Poncelet, D., Pirottin, D., Brouwers, B., Riqquet, J., Schoeberlain, A., Dunner, S., Ménissier, F., Masabanda, J., Fries, R., Hanset, R. & Georges, M. 1997. "A deletion in the bovine myostatine gene causes the double-muscled phenotype in cattle". *Nat. Genetics* **17**: 71-74.

Grobet, L., Poncelet, D., Royo, L., Brouwers, B., Pirottin, D., Michaux, C., Ménissier, F., Zanotti, M., Dunner, S. & Georges, M. 1998. "Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle". *Mamm. Genome* **9**: 210-213.

Ho, S., Hunt, H., Horton, R., Pullen, J. & Pease, L 1989. "Site-directed mutagenesis by overlap extension using the polymerase chain reaction". *Gene* **77**: 51-59.

McPherron, A.C., Lawler, A.M. & Lee, S.-J. 1997. "Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGFβ superfamily member". Nature **387**: 83-90.

Taylor, W.E., Bhasin, S., Artaza, J., Byhower, F., Azam, M., Willard, D.H., Kull, F.C. & Gonzalez-Cadavid, N. 2001. "Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells". *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **280**: E221- E228.

Thomas, M., Langley, B., Berry, C., Sharma, M., Kirk, S., Bass, J. & Kambadur, R. 2000. "Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation". *J. Biol. Chem.* **275**: 40235-40243.

ESTUDIOS GENÉTICOS EN PERDIZ ROJA ESPAÑOLA (*ALECTORIS RUFA* L.)

García, C. B. y Arruga, M. V.
Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular. Facultad de Veterinaria.
C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La perdiz roja (*Alectoris rufa*) es un ave que habita principalmente en la Península Ibérica, Sur de Francia y algunos puntos del Norte de Italia y Sur de Inglaterra. Es una especie que hasta ahora ha sido muy poco estudiada genéticamente (Arruga *et al.*, 1996, 1998; Saz *et al.*, 1998).

A consecuencia de diferentes factores como una excesiva presión cinegética, una elevada presión de sus depredadores naturales, la destrucción de su hábitat natural... el número de perdices silvestres ha disminuido alarmantemente y se cree que puedan quedar pocos ejemplares. Cabe destacar la problemática originada por la suelta de perdices de granja que no sean perdices rojas en pureza (principalmente híbridos con perdiz griega o *A. graeca*, que se cría en España para carne de consumo) ya que estos híbridos se pueden reproducir normalmente contaminando el patrimonio genético de perdiz roja existente en el medio natural.

Así tanto por un interés cinegético como por un interés ecológico y medioambiental se están realizando estudios genéticos en esta especie para ver si existe todavía en el campo perdiz roja pura silvestre. También se están estudiando ejemplares de granjas cinegéticas para averiguar si poseen híbridos entre sus reproductores ya que por ley no se pueden soltar este tipo de individuos.

Para el estudio genético de esta especie se analiza el DNA mediante la metodología RAPDs (Random Amplified Polymorphic DNA) descrita por Williams *et al.* en 1990. Es una forma rápida y fácil de identificar polimorfismos de DNA generados a partir de varias regiones del genoma ya que se amplifican mediante PCR fragmentos al azar usando cebadores de pocos pares de bases (generalmente 10 pb) y una temperatura de hibridación baja que aumenta la inespecificidad obteniendo así como resultado unos patrones de múltiples bandas. Las ventajas que ofrecen los RAPDs son principalmente que se pueden estudiar un gran número de loci en especies de las que se conoce muy poco acerca de su DNA, a partir de poca muestra e incluso con DNA antiguo. Este tipo de marcador ha sido empleado ampliamente en diferentes especies para su caracterización genética y estudios de poblaciones (Plotsky *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 1996; Tansley *et al.*, 2000; Casa *et al.*, 2002). Aunque se señala como inconveniente de esta metodología la baja reproducibilidad de sus resultados, se ha visto que se pueden optimizar para poder ser usados como marcadores fiables y reproducibles (Rothuizen *et al.* 1994, Ambady *et al.* 1996). Con RAPDs se pretenden poner de manifiesto diferencias entre los genomas de perdiz roja y griega, así como los de perdices híbridas que compartirán características de ambas especies. Para encontrar los patrones correspondientes a cada especie se han estudiado los animales individualmente y los resultados han sido analizados con un software de tratamiento de imágenes que permite comparar poblaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 253 ejemplares de perdices procedentes de la Península Ibérica (n_1= 31 perdices griegas, n_2= 4 perdices híbridas y n_3= 218 perdices supuestamente rojas siendo 100 de ellas silvestres y 118 de granja) con diferentes

tipos de primers, dos parejas de cebadores procedentes de microsatélites de pavo (P-2 y P-8) y cebadores procedentes de kits comerciales de (CG02 y CG20).

La extracción del DNA se ha realizado a partir de muestras de sangre, tejidos y tarjetas impregnadas con sangre.

Con los cebadores P-2 y P-8 se ha empleado un protocolo de PCR de una desnaturalización inicial a 95 °C de 5 minutos seguida de 35 ciclos de 95 °C 1 minuto, 30 °C 1 minuto y 74 °C 2 minutos y una extensión final a 74 °C de 10 minutos. Con los cebadores comerciales se ha usado un protocolo de PCR diferente con una desnaturalización inicial a 94 °C de 4 minutos seguida de 45 ciclos de 94 °C 1 minuto, 36 °C 1 minuto y 72 °C 2 minutos y una extensión final a 72 °C de 10 minutos. Los reactivos que entraron a formar parte de la reacción de PCR se optimizaron para cada cebador.

Los fragmentos amplificados se separan por electroforesis en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio al 2,5 % para P-2 y P-8 y al 1,6% con CG02 y CG20.

Los resultados son posteriormente analizados con el software de tratamiento de imágenes Diversity Database™ Versión 2.2.0 . Se ha utilizado como método para computar la similitud entre las muestras el Coeficiente Dice.

También se hace una estimación de la similitud entre las especies *A. rufa* y *A. graeca* calculando para cada primer la frecuencia de bandas compartidas entre ambas usando la fórmula: $B_{ab} = 2b_{ab}/(b_a + b_b)$, adaptada de la fórmula propuesta por Lynch (1990) donde b_a y b_b serán el número de bandas que aparecen en el patrón general de perdiz roja y perdiz griega, respectivamente y b_{ab} es el número de bandas comunes a ambas especies.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras numerosas pruebas con diferentes combinaciones de cebadores, se eligieron 4 con los que se obtenían unos patrones repetibles y diferentes para perdiz roja y perdiz griega (figura 1). Además con estos marcadores se pueden detectar los ejemplares híbridos ya que en los patrones aparecen bandas diagnósticas (comunes a todos los ejemplares de una especie y ausentes en la otra). Para la definición de los patrones y las bandas diagnósticas se compararon los resultados individuales con un programa informático de tratamiento de imágenes (Diversity Database™).

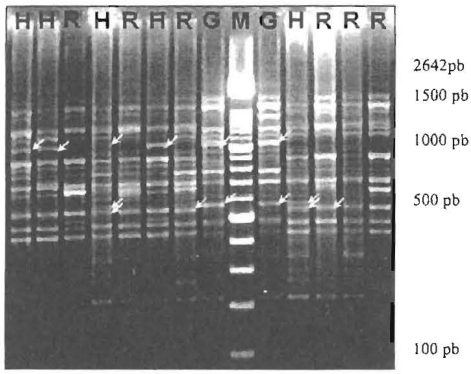


Figura 1. Prueba RAPDs realizada con el cebador CG02. Las calles R corresponden a individuos de perdiz roja, G son de perdiz griega y H de perdices híbridas. Las flechas indican las bandas diagnósticas. La calle M corresponde a un marcador de peso molecular.

Con el programa informático usando el Coeficiente Dice como método de comparación de similitud se construyeron también árboles filogenéticos con el método UPGAMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages).

Aunque con algunos marcadores se consiguieron separar las poblaciones de perdices griegas de las de rojas, no se consiguieron agrupar las perdices rojas por su origen (granja/silvestre) o localización geográfica (Norte/Sur de la Península) ni incluso agrupar las perdices de las diferentes granjas. Aparecen perdices híbridas tanto entre los animales de granja como en los silvestres de diferentes localizaciones aunque es cierto que en algunas granjas aparece un mayor porcentaje de animales híbridos que en otras. De igual modo se han detectado perdices rojas puras tanto en el campo como en las granjas por lo que aún estamos a tiempo de evitar que se empeore la situación de la perdiz roja en España evitando la suelta en el campo de perdices rojas no puras.

En cuanto a los cálculos realizados para determinar la frecuencia de bandas compartidas entre los patrones de la perdiz roja y la perdiz griega se han encontrado unos valores muy altos para los cuatro marcadores que apoya la proximidad filogenética de ambas especies propuesta en estudios anteriores (Randi *et al.* 1992, Randi 1996).

Podemos concluir que con la metodología RAPDs una vez optimizada se pueden obtener patrones genéticos repetibles en estas especies y además permite la identificación de posibles híbridos. Con esta metodología se ha logrado un mayor conocimiento genético de las perdices rojas y griegas y en el futuro se pretende ampliar este estudio con otro tipo de marcadores para conseguir más información complementaria.

REFERENCIAS

Ambady, S.; Carpio, C. M., Ponce de León, F. A. 1996. *Animal Biotechnology*, 7(2):99-112.

Arruga, M. V.; Tejedor, M. T.; Villaroel, M. R.; Heriz, A.; Ferreira, E.; Abenia, F. J. 1996. *Cytogenetics and Cell Genetics*, 74: 228.

Arruga, M.V.; Tejedor, M.T.; Saz, J.; Monteagudo, L:V.; Villarroel, M. 1998. *Expoaviga,* 98: 9-14.

Casa, A. M.; Mitchell, S. E.; Lopes, C. R.; Valls, J. F. M. 2002. *The Journal of Heredity,* 93(4):300-302.

Lynch, M.,1990. *Molecular Biology and Evolution*, 7:478-484.

Plotsky, Y.; Kaiser, M. G.; Lamont, S. J. 1995. *Animal Genetics*, 26:163-170.

Randi, E.; Meriggi, A.; Lorenzini, R.; Fusco, G.; Alkon, P. 1992. *The Auk*, 109(2):358-367.

Randi, E. 1996. *Molecular phylogenetics and Evolution,* 6(2):214-227.

Rothuizen, J.; Van Wolferen, M. 1994. *Animal Genetics,* 25:13-18.

Saz, J.; Arruga, M.V.; Tejedor, M.T.; Villarroel, M.; Savva, D. 1998. *Hungarian Journal of Animal Production,* 48(1):86-89.

Smith, E. J.; Jones, C. P.; Bartlett, J.; Nestor, K. E. 1996. *Poultry Science*, 75:579-584.

Tansley, S. A.; Brown, C. R. 2000. *Biological Conservation*, 95:39-48.

Williams, J. G. K.; Kubelik; A. R.; Livak, K. J.; Rafalski, J. A.; Tingey, S. V. 1990. *Nucleic Acids Research*, 18:6531-6535.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 546-548

OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LAS CASEÍNAS α_{s1} Y α_{s2} MEDIANTE ELECTROFORESIS CAPILAR

José A. Gómez[1], Pastora Agüera[2], Lourdes Amigo[1], y Juan M. Serradilla[2]
[1] Instituto de Fermentaciones Industriales. C.S.I.C.
[2] Departamento de Producción Animal. Universidad de Córdoba

INTRODUCCIÓN

El contenido de caseínas determina en gran medida las propiedades tecnológicas y el rendimiento quesero de la leche de cabra (Addeo y col., 1987). La mayor o menor proporción de cada una de las fracciones caseínicas de (α_{s1} α_{s2}, β y κ) influye también en las propiedades reológicas de la leche. Las frecuencias génicas y los efectos del polimorfismo de la CSN1S1 han sido ampliamente estudiados, sobre todo en las razas francesas (Remeuf, 1993; Ricordeau y col. 2000) y en algunas españolas (Jordana y cols.1996, Sánchez y cols.1998). En trabajos anteriores en el Departamento de Producción Animal de la UCO se trataron de cuantificar las diferentes fracciones caseínicas siendo imposible separar las fracciones de α_{s1}-y α_{s2}-CN utilizando técnicas electroforéticas en geles de almidón PAGE-SDS (Díaz, 1993). Por otra parte, el grupo del Instituto de Fermentaciones Industriales del C.S.I.C. ha trabajado en el aislamiento por cromatografía líquida rápida de proteínas (FPLC) de distintas fracciones caseínicas de leche de oveja (Recio y col., 1997*a*) y cabra (Recio y col., 1997*b*) así como en el análisis por electroforesis capilar (CE) de leche y fracciones caseínicas con distintos fines, entre ellos la identificación del polimorfismo genético de las proteínas lácteas (Recio y col. , 1997*c* y 1997*d*; Molina y col. , 2000; Miralles y col. , 2000), pero sin llegar a realizar análisis cuantitativos de las distintas fracciones caseínicas

El objetivo planteado en este trabajo es la optimización de un método de EC rápido y fiable, para la determinación cuantitativa de α_{s1} y α_{s2}-CN en muestras individuales de leche de cabra.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las caseínas se prepararon a partir de leche de cabras pertenecientes a distintas ganaderías de la Asociación Española de Criadores de la Cabra Malagueña, cuyos genotipos para la α_{s1}-CN eran BB, BF, EE o FF.

Se desnató y ajustó el pH a 4.1 con HCl 2M. Se dejaron las muestras en reposo 2 horas y, a continuación, se centrifugaron a 4000 g durante 20 min. a 5° C. El sobrenadante conteniendo las proteínas de suero se filtró utilizando papel Whatman N° 40. El precipitado de caseínas se lavó 3 veces con agua acidulada a pH 4.1, se congeló y se liofilizó. En la leche entera y en el sobrenadante conteniendo las proteínas de suero se determinó el contenido en proteínas mediante el método Kjeldahl

La obtención de α_{s1}- y α_{s2}-CN caprina se llevó a cabo a partir de la caseína de la leche de cabras con genotipo α_{s1}-CN BB, utilizando un equipo de FPLC (Pharmacia LKB Biotechnology S-75182, Uppsala, Sweden) con una columna preparativa SP-Sepharose Fast Flow (Pharmacia 26/10) siguiendo el método de Law y Tziboula (1992) con ciertas modificaciones para mejorar la separación de las α_{s1}- y α_{s2}-CN caprinas. Para preparar la muestra se disolvieron 3 g de caseína en 100 mL de fase A para obtener una concentración final de 30 mg/mL y una vez ajustado el pH a 7 se añadieron 2 mL de mercaptoetanol y se dejó agitando durante 1 hora. Posteriormente

se ajustó el pH de la muestra a 4 con ácido fórmico y se procedió a su inyección en un volumen comprendido entre 5 y 15 mL. Tanto las fases de eluyente como las muestras se filtraron a través de una membrana de 0.45 micras.

Las fracciones correspondientes a la α_{s1}-CN y α_{s2}-CN de leche de cabra recogidas varias veces se dializaron (membrana de 6000-8000 Da) en cámara fría y con agitación constante durante 48 horas, cambiando el agua aproximadamente cada 6 horas. Las fracciones dializadas se congelaron y liofilizaron.

El procedimiento empleado para análisis de la α_{s1}- y α_{s2}-CN de leche de cabra por electroforesis capilar (CE) se basó en el método descrito por de Jong y col., (1993) y posteriormente optimizado por Recio y Olieman (1996) para la separación de las proteínas lácteas. El análisis fue realizado en un equipo Beckman P/ACE MDQ controlado por un software propio (Beckman Instruments Inc., Fullerton, USA). Se utilizó un capilar de sílice con un recubrimiento hidrofílico neutro CElect P1 (Supelco, Bellefonte, USA) de dimensiones 60 cm $\times$ 50 μm de d.i.

Las separaciones se llevaron a cabo a 45 °C con un gradiente lineal de voltaje de 0 a 25 kV en 3 min, seguido de voltaje constante a 25 kV. El tampón de separación, pH 3, estaba formado por citrato trisódico dihidratado (Sigma) 20 mM y ácido cítrico (Sigma) 0.32 M disueltos en urea 6 M y el tampón de la muestra era una disolución 167 mM de Tris (hidroximetil) aminometano (Merck), 67 mM de etilendiaminotetraacetato disódico dihidratado (EDTA) (Merck), 42 mM de ácido 3-morfolinopropanosulfónico (MOPS) (Fluka, Buchs, Alemania) y 17 mM de DTT (Sigma) en urea 6 M, de pH 8.6.

Para preparar la muestra antes de su inyección se disolvieron 18 mg de caseína de leche de cabra ó de α_{s1}-CN ó α_{s2}-CN caprinas en una mezcla de 720 μl de tampón de la muestra y 280 μL de agua. Las inyecciones se realizaron en el extremo anódico por inyección hidrodinámica durante 18 seg a una presión de 3.4 kPa. La detección se realizó en el extremo catódico a 214 nm. Antes de cada separación, el capilar se lavó con tampón de separación en sentido inverso (del cátodo al ánodo) durante 6 min.

Para establecer las curvas de calibrado se prepararon disoluciones de α_{s1}- y α_{s2}-CN caprina liofilizadas en tampón de la muestra (10 mg/ml) en seis proporciones diferentes (concentración final de α_{s1}-CN de 0.25 a 15.89 mg/ml y de α_{s2}-CN de 0.21 a 13.73 mg/ml) teniendo en cuenta el contenido de proteína calculado. Las regresiones lineales entre las áreas corregidas (A_c) y las concentraciones se establecieron utilizando el programa Microsoft Excel 7.0. La determinación del límite de detección y la señal de detección del método se realizó mediante el programa Detarchi (Ortiz y Sarabia, 1994).

Se calcularon la exactitud media del método, la repetibilidad y la reproducibilidad, así como la recuperación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de regresión correspondiente a las calibraciones para la α_{s1}-CN y α_{s2}-CN caprinas dio lugar respectivamente a las rectas:

A_c de α_{s1}-CN = - 0.95 + 18.06 x concentración α_{s1}-CN (R^2 = 0.994)

A_c de α_{s2}-CN = 4.23 + 22.19 x concentración α_{s2}-CN (R^2 = 0.996)

Los parámetros analíticos de la determinación cuantitativa de ambas fracciones se indican en la tabla 1.

Para evaluar el método de CE optimizado se procedió al análisis de 18 muestras de individuales de leche de cabra procedentes de varias ganaderías Malagueñas correspondientes a distintos genotipos para la α_{s1}-CN, cinco muestras α_{s1}-CN BB, cinco EE, seis BF y dos FF. Los valores se recogen en la tabla 2.

Tabla 1. Parámetros analíticos de las calibraciones

Parámetro	Determinación	α_{s1}-CN caprina	α_{s2}- CN caprina
Linealidad	Recta de calibrado	$R^2 = 0.994$	$R^2 = 0.996$
Sensibilidad	Límite de detección	1.23 mg/ml	0.98 mg/ml
	Señal de detección	10.6 u.a.	15.4 u.a.
Exactitud	V. encontrado/ V. real	105.6 %	90.02%
Precisión	Repetibilidad	$T_m = 0.35$ $A_c = 1.77$	$T_m = 0.46$ $A_c = 3.86$
	Reproducibilidad	$T_m = 0.41$ $A_c = 2.28$	$T_m = 0.38$ $A_c = 6.42$
	Recuperación		
	0.5 mg/ml	94%	88%
	1.0 mg/ml	102%	86%

Tabla 2. Valores medios de α_{s1}-CN y α_{s2}-CN de muestras para evaluación del método.

Genotipos para α_{s1}-CN.	Valor medio α_{s1}-CN.	Valor medio α_{s2}-CN
BB	9.42 g/Kg,	2.64 g/Kg,
BF	6.11 g/Kg,	2.81 g/Kg,
EE	3.35 g/Kg,	2.51 g/Kg,
FF	1.45 g/Kg,	1.25 g/Kg,

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Addeo, F, Masi, P, Rubino, R. 1987. En Symp. Philostios. Agrimes. pp.291-311.

Díaz Carrillo, E. Tesis Doctoral. 1993

de Jong, N., Visser, S., Olieman, C. (1993). *J. Chromatogr. A*,. 652, 207-213.

Jordana J., Amills M., Diaz E., Angulo C., Serradilla J.M., Sánchez A. (1996). Small Ruminant Research, 20, 215-221.

Law, A.J.R., Tziboula, A. (1992). *Milchwissenschaft*, 47, 558-652.

Miralles, B., Ramos, M., Amigo, L. (2000). *J. Dairy Res.*, 67, 91-100.

Molina, E., De Frutos, M., Ramos, M. (2000 *J. Dairy. Res.* 67, 209-216.

Ortiz, M.C., Sarabia, L.A. (1994). En *Avances en Quimiometría Práctica*, (Ed. R. Cela), pp. 189-209.

Pharmacia (1986). *PhastSystem Development Technique File nº 111.*

Recio, I., Olieman, C. (1996). *Electrophoresis* 17, 1228-1233.

Recio, I., Amigo, L., Ramos, M., López-Fandiño, R. (1997*a*). *J. Dairy Res.*, 64, 221-230.

Recio, I., Pérez-Rodríguez, M.L., Amigo, L., Ramos, M. (1997*b*). *J. Dairy Res.*, 64, 515-523.

Recio, I., Pérez-Rodríguez, M.L., Ramos, M., Amigo, L. (1997*c*). *J. Chromatogr. A*, 768, 47-56.

Recio, I., Ramos, M., Amigo, L. (1997*d*) *J. Dairy Res.*, 64, 525-534.

Remeuf, F. Lait, 73, 499-51

Ricordeau, G, Manfredi, E, Amigues Y. (2000). Proceedings 7th Inter. Conference on goats. Tours, France, pp. 249-251.

Sánchez A., Angulo C., Amills M., Ares J.L., Serradilla J.M. (1998). Proc 6th WCGALP 24: 242-245.

DIAGNOSTICO DE UN CASO DE FREEMARTINISMO OVINO EN LA RAZA RASA ARAGONESA

Ricardo Ponz Mir y Mª Victoria Arruga Laviña

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

INTRODUCCIÓN

El síndrome Freemartin ha sido muy estudiado en vacuno, y se puede definir como una hembra estéril, nacida juntamente con un macho, en un parto múltiple o gemelar. Sin embargo, no hay mucha información al respecto sobre este síndrome en ovino. La frecuencia de este fenómeno en vacuno es de alrededor de un 90 % en los partos gemelares con terneros de ambos sexos, sin embargo en ovino, estos datos se reducen entre un 2 y un 7 % según los estudios. (Szatkowka, 1995)

Como consecuencia de la anastomosis vascular que se produce entre los dos embriones heterosexuales, ambos individuos son quimeras, ya que cada uno de ellos recibe células del otro. En el caso de las hembras freemartins, hay intercambio de células hematopoyéticas que permanecen activas durante el resto de la vida del animal. Si se estudian las poblaciones leucocitarias se distinguen fácilmente los cromosomas sexuales. De esta forma, tanto en el macho como en la hembra, se pone de manifiesto este quimerismo por la existencia de células tanto XX como XY en ambos gemelos, de aquí la denominación de **quimerismo XX/XY.**

Sólo la población celular leucocitaria presenta este quimerismo, el resto de las células de estos gemelos son XX en la hembra o XY en el macho. Excepcionalmente, tambien las células germinales presentan el quimerismo, aunque las células migratorias no parece que sean capaces de formar gametos en las gónadas del huésped. (Nicholas, 1996).

El resultado final de la anastomosis vascular es la tolerancia al **homoinjerto,** que es la habilidad de los gemelos de aceptar un injerto de piel o de otro tejido procedente del otro miembro de la pareja sin mostrar síntomas de rechazo.

Los principales efectos causados por el quimerismo se producen en las gónadas y en el tracto reproductivo.

Los genitales externos son bastante similares a las hembras normales, excepto el clítoris que con frecuencia se presenta de un tamaño mas grande de lo normal. Internamente, suelen tener degenerados los conductos de Muller y un desarrolo de los de Wolff. La vagina suele ser ciega y presentan conductos deferentes y vesículas seminales en lugar de útero y cerviz.

Los freemartins ovinos no se identifican hasta que el animal presenta problemas reproductivos y no consigue quedarse gestante tras repetidas épocas de cubrición.

MATERIAL Y MÉTODOS

El animal estudiado es una hembra de raza Rasa Aragonesa, inscrita en el Libro Genealógico de la raza. No se apreciaron caracteres morfológicos extraños en su calificación racial y fue elegida como animal de reposición.

Al año de vida se aprecian dos bolsas inguinales a modo de testículos, se constata la presencia de una vagina acortada, aspecto anormal de la vulva, con un clítoris de sobredimensionado y masculinización de la cara. (fig 1 y 2)

Se procede a realizar una extracción sanguínea con heparina y se realiza un cultivo sanguíneo siguiendo los protocolos estándar.

A partir de las células cultivadas se realizan extensiones metafásicas y posterior bandeo G para identificación cromosómica.

Las preparaciones se observan al microscopio y se analizan un mínimo de 30 metafases.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El animal presentó un cariotipo típico de Freemartin, con un 31% de células XX y 69% de células XY. (fig 3)

Se han descrito variedad de anormalidades, tanto morfológicas como hormonales, en los trabajos de Smith *et al.* (2000) y Vallenzasca y Galli (1992).

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Bosu y Basrur (1984), que detectaron un intersexo ovino registrado como hembra en el parto y que posteriormente desarrolló apariencia y comportamiento masculino, así como el de Arruga *et al.* (2000), estudiado en nuestro laboratorio.

El alto porcentaje de células XY sorprende en estos casos de Freemartinismo, pero no está correlacionado con el porcentaje de masculinización del animal.

La baja incidencia de animales Freemartin en ovino, no hace pensar a los veterinarios de campo en este síndrome como causa de infertilidad. No obstante se debe vigilar este problema en razas ovinas que son seleccionadas por su prolificidad, donde se busca como objetivo de selección los partos dobles.

BILIOGRAFIA

ARRUGA, M.V.; MONTEAGUDO L.V.; SIERRA I. 2000 Vet Med-Czech, 45,(10-11) 302-303

BOSU, W.T. ; BASRUR, P.K. 1984. Can. J. Comp.Med, 48,402-409

LADDS, P.W. 1993 Vet Clin North Am Food Anim Pract. Mar 9(1) 127-44

NICHOLAS, 1996 Introducción a la Genética Veterinaria. Ed. Acribia.

SMITH, K.C.; PARKINSON, T.J.; LONG, S.E.; BARR, F.J. 2000. Vet Rec. May 13,146(20) 574-8

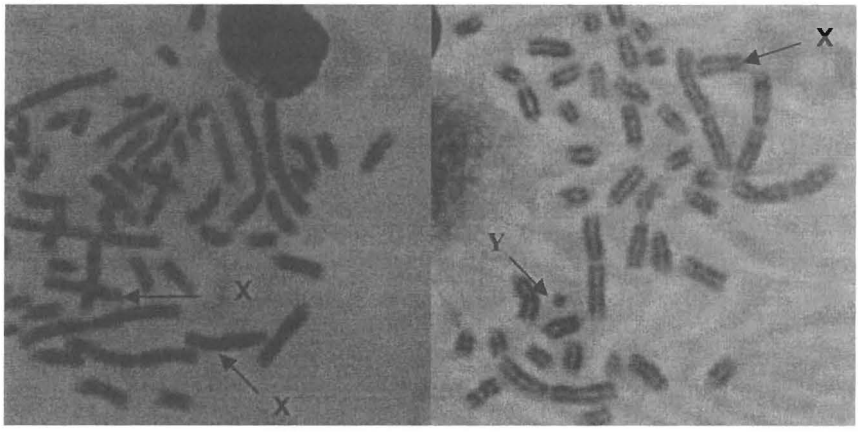
SZATKOWKA, I. 1995. Journal of Applied Genetics 36 373-378

VALLENZASCA C, GALLI A. 1992 Andrologia 1992 Nov-Dec;24(6):345-8

Figura 1: Vista posterior del animal: clítoris abultado (flecha blanca) y las bolsas escrotales (flechas rojas)

Figura 2: Bolsas escrotales

Figura 3: metafase XX y metafase XY



POLIMORFISMO DE LOS GENES DE LA MALATO DESHIDROGENASA (*MDH1*) Y DEL ENZIMA MÁLICO (*ME1*) PORCINOS

Oriol Vidal[1], Luis Gómez-Raya[2], Armand Sánchez[1], Marcel Amills[1]

[1]Unitat de Ciència Animal, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Bellaterra 08193.
[2]Àrea de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Lleida 25198.

INTRODUCCIÓN

Los enzimas malato deshidrogenasa soluble (MDH1) y enzima málico citosólico dependiente de $NADP^+$ (ME1) participan en la biosíntesis de los ácidos grasos catalizando respectivamente la reducción del oxalacetato a malato y la descarboxilación oxidativa del malato en piruvato y NADPH. Ambas reacciones resultan fundamentales en el metabolismo de los ácidos grasos puesto que generan el poder reductor, en forma de NADPH, necesario para la biosíntesis de los mismos y además posibilitan la transferencia de acetil-CoA desde la mitocondria al citosol por la vía del sistema de transporte del tricarboxilato.
La MDH1 es un dímero formado por dos subunidades idénticas. Existe otra isoforma denominada MDH2 y localizada a nivel mitocondrial. El gen *MDH1* porcino ha sido mapeado en el cromosoma 3 (Bruch et al. 1996) y el cDNA ha sido secuenciado completamente (Trejo et al. 1996). En el ratón, el gen *MDH1* tiene un tamaño de 14 kb y posee 9 exones (Setoyama et al. 1988).
El ME1 posee una estructura tetramérica. Existen otras dos isoformas del enzima málico que ejercen su función a nivel mitocondrial y son dependientes de NAD^+ (ME2) o $NADP^+$ (ME3). En la especie porcina se conoce la secuencia completa del cDNA del *ME1* y ha sido mapeado en el cromosoma 1 (Nunes et al. 1996). En la rata, el gen *ME1* tiene un tamaño de 95 kb y posee 14 exones (Morioka et al. 1989). La expresión del gen *ME1* en ratón (Nikodem et al. 1989) y en pollo (Goodridge et al. 1998) está regulada por factores de tipo nutricional y hormonal.
La finalidad principal de este trabajo ha consistido en secuenciar el cDNA *MDH1* y *ME1* de cerdos de distintas razas con el objetivo de identificar polimorfismos que puedan ser empleados en estudios de asociación con caracteres productivos, especialmente aquellos relacionados con el depósito graso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de cDNA total porcino: Se obtuvo el RNA total a partir de muestras de hígado de cerdos de las razas Pietrain, Large White, Landrace, Vietnamita e Ibérica. Cada muestra se congeló en nitrógeno líquido y fue pulverizada con un mortero y homogenizada mediante un politrón. El RNA total se purificó mediante el preparado *Trizol reagent* (Gibco BRL, Life Technologies) y la síntesis de cDNA se llevó a cabo mediante el kit *ThermoScript RT-PCR System kit* (Invitrogen S.A.).

Amplificación del cDNA MDH1 y ME1: Los oligonucleótidos empleados en la reacción de amplificación del cDNA de la *MDH1* fueron MDH2F: 5'-GAG TGC TTG TGA CTG GAG CA-3' y MDH9R: 5'-CAG GCA GAG GAA AGA AAT TCA-3'. El perfil térmico fue de 94 ºC – 1 min, 60 ºC – 1 min, 72 ºC – 2 min durante 35 ciclos. Para amplificar el cDNA de *ME1* se utilizaron dos juegos de oligonucleótidos: ME1.1F: 5'-CCA CCT TGC TTC ATC AGT CA-3' y ME1.1R: 5'-ATC TGA GAC CGG ACA AAT GC-3', situados en los exones 2 y 14 respectivamente, y ME1.2F: 5'-CCT GAA CCC TCA AAC AAG GA-3' y ME1.2R: 5'-AAG CAT TCT GGA TCT CTT CAA AA-3', situados en la región 3' UTR. El perfil térmico fue de 94ºC – 1 min, 60 ºC (ME1.1) o 55 ºC (ME1.2) – 1 min y 72 ºC – 2 min durante 35 ciclos. Las condiciones de la reacción de PCR fueron las mismas para cada uno de los tres juegos de

oligonucleótidos: 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM dNTPs, 0.2 µM de cada *primer*, 2 µl de cDNA y 0.5 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 20 µl.

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

Genotipado del polimorfismo C/T del exón 7 del gen MDH1: un fragmento del gen *MDH1* que incluye parte del exón 6, el intrón 6 y parte del exón 7 se amplificó mediante los oligonucleótidos MDH6F: 5'-TCA TCT GGG GAA ACC AT- y MDH7R: 5'-CTG GGG TTC CAA ACC AGA T-3'. El perfil térmico fue 94 °C – 1 min, 61 °C – 1 min, 72 °C – 2 min durante 35 ciclos. Las condiciones de la reacción de amplificación fueron 1.5 mM $MgCl_2$, 200 µM dNTPs, 0.2 µM de cada *primer*, 30 ng de DNA y 0.5 U de Taq DNA polimerasa (Ecogen) en un volumen final de 20 µl. El producto amplificado fue purificado mediante el *ExoSAP-IT kit* (Amersham Biosciences Europe GMBH) y la mutación fue genotipada mediante el *SnaPshot™ ddNTP Primer Extensión kit* (Applied Biosystems). La secuencia del oligonucleótido usado en la reacción de extensión fue SNP7, 5'-ATA TAC TGC GGC AAA AGC CAT TTG TGA CCA-3'.

Genotipado de los polimorfismos de la región 3'-UTR del gen ME1: un fragmento de 1.5 kb de la región 3'-UTR del gen se amplificó mediante los oligonucleótidos ME1.2F y ME1.2R. Las condiciones de PCR fueron las mismas que las descritas en el anterior apartado. El producto amplificado fue purificado mediante el *ExoSAP-IT kit* (Amersham Biosciences Europe GMBH) y las mutaciones fueron genotipadas mediante el *SnaPshot™ ddNTP Primer Extensión kit* (Applied Biosystems). Los oligonucleótidos usados en las reacciones de extensión fueron: SNPa 5'-TAT AGC CTA CAT TTC TAA CTC CA-3' (T/C_{1706}), SNPb 5'-TTT AAA TAT TGG GAT CTT TTA TAA TGA-3' (G/T_{1762}), SNPc 5'-TAA TTG ATA ATT TCC CCT TAA CAC TCT AAA-3' (A/C_{1807}), SNPd 5'-TAA TAA TAT AAT TAG GGT AAA CAT CAC AGT AGA CA-3' (C/A_{1857}) y SNPe 5'-ATA TAT ATA TAT AAA TTA TTT TGC TTC ATT TAC TTT CTT G-3' (T/A_{1880}).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el caso del gen *MDH1*, se amplificó un fragmento de 1 kb que abarca los exones 2 y 9 mientras que para el gen *ME1* se amplificaron dos fragmentos de aproximadamente 1.5 kb que incluyen los exones 2 al 14 y la región 3'-UTR, respectivamente. Estos fragmentos se amplificaron y secuenciaron en diez individuos de distintas razas porcinas. Las secuencias obtenidas se compararon con el programa Multalin (Corpet et al. 1988). Se detectó la presencia de un polimorfismo silencioso en el exón 7 del gen *MDH1*, mientras que para *ME1* se identificaron 5 mutaciones localizadas en la región 3' UTR (ver Tabla 1). Cuatro de las mutaciones detectadas en la región 3' UTR del gen *ME1* coinciden en un mismo haplotipo en todos los individuos analizados.

MDH1 y *ME1* son, dada su función esencial en la lipogénesis, genes candidatos a considerar en estudios de asociación con caracteres de deposición de grasa. El caso del gen *ME1* es especialmente interesante porque se han descrito diferencias de actividad enzimática entre cerdos Landrace e Ibéricos (Morales et al. 2002). A pesar de que las mutaciones encontradas en el cDNA del *ME1* no provocan ningún cambio aminoacídico podrían influir en la expresión o la estabilidad y la vida media del tránscrito, tal como se ha descrito para polimorfismos en la zona 3' UTR de la beta-globina (Bilenoglu et al. 2002) y del factor de necrosis tumoral alfa, TNFα (Di Marco et al. 2001). Por este motivo se han optimizado métodos de genotipado para las distintas mutaciones identificadas en ambos genes basándose en la técnica de *primer extension analysis*. Actualmente se está realizando el genotipado de

546 cerdos Landrace de una población comercial para realizar un estudio de asociación entre variantes genéticas de *MDH1* y *ME1* y caracteres de calidad de la carne y de la canal.

Tabla1. Frecuencias alélicas para cada una de las mutaciones identificadas. Dichas frecuencias han sido calculadas a partir de 10 individuos de cada raza. Las posiciones de las mutaciones de los genes *MDH1* y *ME1* (indicadas mediante subíndices) están referidas a las secuencias con número de acceso U44846 y X93016, respectivamente.

GEN	MUTACION	RAZA		
		Large White	Pietrain	Landrace
MDH1	C_{759}	0,63	0,31	0,29
	T_{759}	0,37	0,69	0,71
ME1	T_{1706}	0,25	0,7	0,5
	C_{1706}	0,75	0,3	0,5
	G_{1762}	0,25	0,7	0,5
	T_{1762}	0,75	0,3	0,5
	A_{1807}	0,25	0,7	0,5
	C_{1807}	0,75	0,3	0,5
	C_{1857}	0,25	0,7	0,5
	A_{1857}	0,75	0,3	0,5
	T_{1880}	0,95	1	0,9
	A_{1880}	0,05	0	0,1

BIBLIOGRAFÍA

Bilenoglu O, Basak AN, Russell JE. 2002. Br J Haematol 119:1106-14.

Bruch J, Rettenberger G, Leeb T, Meier-Ewert S, Klett C, Brenig B, Hameister H. 1996. Cytogenet Cell Genet 73:164-7.

Corpet, F. 1988. Nucleic Acids Res. 16: 10881-90.

Di Marco S, Hel Z, Lachance C, Furneaux H, Radzioch D. 2001. Nucleic Acids Res 29:863-71.

Goodridge AG, Thurmond DC, Baille RA, Hodnett DW, Xu G. 1998. Europ J Nutr. 37 Suppl 1:8-13

Morales J, Perez JF, Martin-Orue SM, Fondevila M, Gasa J. 2002. Br J Nutr 88:489-498.

Morioka H, Magnuson MA, Mitsuhashi H, Song MK, Rall JE, Nikodem VM. 1989. Proc Natl Acad Sci USA. 86:4912-6.

Nikodem VM, Magnuson MA, Dozin B, Morioka H. 1989. Endocr Res 15:547-64.

Nunes M, Lahbib-Mansais Y, Geffrotin C, Yerle M, Vaiman M, Renard C. 1996. Mamm Genome 7: 815-21.

Setoyama C, Joh T, Tsuzuki T, Shimada K. 1988. J Mol Biol. 202:355-64.

Trejo F, Costa M, Gelpi JL, Busquets M, Clarke AR, Holbrook JJ, Cortes A. 1996. Gene 172:303-8.

AGRADECIMIENTOS

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

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN A LA CURVA DE CRECIMIENTO DE CORDEROS DE LA RAZA MERINA

Menéndez Buxadera, A.[1], M. Valera[3], J.M. Serradilla[2], A. Molina[3]

[1] Centro de Control Pecuario, Ministerio de la Agricultura, Conill y Boyeros, Ciudad de La Habana (Cuba).
[2] Departamento de Producción Animal, E.T.S.I.A.M. Universidad de Córdoba (España)
[3] Departamento de Genética. Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba (España)

INTRODUCCIÓN

El control de rendimientos, instrumento imprescindible para llevar a cabo la selección tiene un coste por animal bastante mayor en los pequeños rumiantes que en el vacuno. Cuando dicho control debe realizarse además en condiciones extensivas, es frecuente disponer solamente de número de controles puntuales reducido para la estimación de caracteres que están referidos a un determinado periodo de tiempo, como son los pesos a edades estándar o las ganancias medias de peso/día. En estas circunstancias, dicha estimación suele dar valores poco fiables, perdiéndose además información, al quedar esta reducida a un solo valor para cada carácter. Por ello, es preferible utilizar en la valoración genética todos los controles diarios, en lugar de unos valores unidos de peso o ganancia media diaria por animal, para lo que existen técnicas como la *regresión aleatoria.*

En el presente trabajo se realiza una estimación de los principales factores ambientales que afectan al crecimiento del cordero merino en los 90 días de vida como paso previo a otros estudios sobre la utilización de los controles individuales mediante técnicas de *regresión aleatoria*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hasta el año 2002 el Núcleo de Control Cárnico del Esquema de Selección del Merino Autóctono Español contaba con 124586 controles de peso realizados a 32701 corderos. De esta base de datos se seleccionaron los controles de peso vivo ($\mathbf{PV_i}$) correspondientes a 16733 animales que presentaban 4 pesadas en el intervalo de tiempo analizado (nacimiento hasta los 90 días de vida) construyéndose una base de datos constituida por un total de 66932 registros de $\mathbf{PV_i}$. Con la finalidad de garantizar una buena estructura de distribución de los datos en el periodo de tiempo abarcado (1992 hasta el 2002) y un mayor grado de identificación de los criadores con respecto a los objetivos generales del esquema, estos corderos pertenecían a las 7 ganaderías seleccionada por presenta más de 2000 corderos controlados.

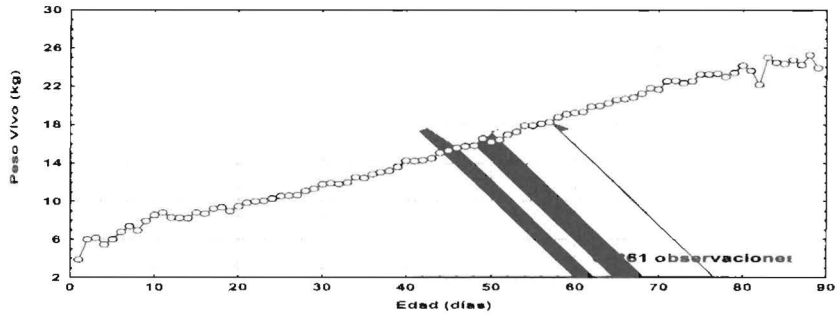
Desde el punto de vista estadístico, se aplicaron diversos análisis de regresión (bi) en los cuales la edad de cada animal fue incorporada en forma polinomial hasta una potencia de orden 5. Los efectos fijos de rebaño-año-época (RAE con 265 niveles), edad al parto de la madre (11 niveles) y la combinación sexo del cordero-tipo de parto (simple y doble, 4 niveles en total) fueron incorporados gradualmente con vistas a estimar la contribución de cada efecto en la reducción de la varianza residual del modelo. Los efectos de la

edad como covariable fueron evaluadas tanto en forma general a nivel de todos los factores incluidos en el modelo, como transversalmente para cada efecto fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La representación general del crecimiento de la muestra analizada en este estudio se muestra en la Figura1. Este conjunto de datos se denomina como datos longitudinal-mixto (Fitzhugh, 1976) en el cual cada punto representa una combinación de los registros tomados a diferentes animales en cada edad especifica, representado en conjunto la curva de crecimiento promedio de todos los animales, cada uno de los cuales están representados en mas de un punto transversal de la trayectoria de crecimiento, en nuestro caso entre el nacimiento y los 90 días edad.

Figura 1. Crecimiento general del cordero merino en los primeros 90 días de vida.



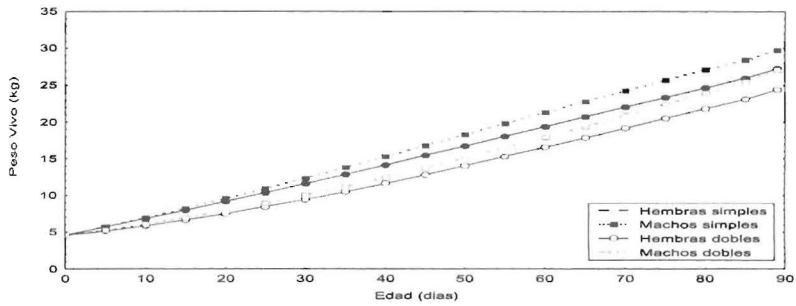
A pesar de que visualmente se aprecie un importante componente lineal, el estudio demostró una desviación de la linealidad estadísticamente significativa, hasta el polinomio de 5 grado. Este explicó el 81.1% de la variación en la curva de crecimiento (CC) general. No obstante el análisis en detalle de esta CC muestra un patrón particular, en el que la curva general descrita se puede dividir en tres periodos en cada uno de los cuales el aumento en $\mathbf{PV}_i$ fue una función lineal de la edad del animal. En las dos primeras semanas de nacido se produce un fuerte crecimiento diario alcanzando un máximo a los 14 días de edad (b_1=0.3324 ± 0.003). Posteriormente la tasa de crecimiento aumenta pero a un menor ritmo hasta los 35 días de edad (b_2=0.2017 ± 0.005). En la tercera etapa se manifiesta una mayor tasa de crecimiento hasta los 75 días de edad (b_3=0.2642 ± 0.002) y finalmente se presenta un patrón un tanto errático. Esta descripción debe considerarse con cautela hasta que sean confirmados por posteriores análisis con diseños específicos.

El modelo poblacional antes descrito presentó una varianza residual (δ^2) de 9.426 kg^2, valor que se redujo a 7.687 kg^2 cuando fueron incorporados los efectos de RAE (Rebaño-Año-Estación) aumentando la precisión en un 18.5%, confirmando la importancia que suelen tener los efectos de los grupos contemporáneos en este tipo de estudio. Cuando se realizó un estudio de regresión intra-clase (los efectos de la edad del animal se estudiaron intra edad al parto de la madre), se constató un efecto altamente significativo, reduciéndose la δ^2 a 6.363 kg^2, lo cual equivale a un aumento del orden de

32.6% con respecto a la precisión del modelo poblacional. Estos resultados indican que la influencia de la edad al parto de la madre no sólo se manifiesta en el desarrollo global de la cría hasta el destete, tal y como se considera en los estudios de este tipo (Wilson y col 1996; Analla y col 1998; Sierra y col 1998), sino también afecta a los componentes de la forma de CC, lo cual deja abierta la interrogante si el crecimiento de la crías en diferentes partos de su madre pueden considerarse como diferentes caracteres (Okut y col 1999), al igual que suele considerarse en el caso de la producción láctea con las diferentes lactaciones.

El mayor aumento en precisión se encontró cuando se estudió la importancia de la combinación sexo del cordero y tipo de parto. Este factor afectó la CC en forma altamente significativa, explicando el modelo el 88.0% de la variación total de la CC y reduciendo la varianza residual a 6.057 kg^2. La figura 2 muestra las diferencias en la curva de crecimiento de los diferentes niveles de este factor, resultando evidente que los efectos del sexo del animal pueden arrojar resultados sesgados si no se considera el tipo de parto y el sexo de los corderos.

Figura 2. Efecto del sexo y tipo de parto sobre el crecimiento de corderos merinos



Finalmente debe plantearse que cuando se estimaron las ecuaciones intra padre del cordero (resultados no mostrados) se evidenció una variabilidad muy importante que sugiere la posible existencia de efectos genéticos sobre los componentes de la forma de la curva de crecimiento en el Merino español. Los resultados de este estudio apuntan en el sentido de que la practica establecida en el Esquema de la raza que considera la estimación del peso vivo estandarizado a edad fija deben ser revisados, ya que la utilización de procedimientos estadísticos de medidas repetidas se puede incrementar la eficiencia en el uso de los controles disponibles y aumentar la precisión de las valoraciones genéticas.

REFERENCIAS

Analla M., J.M. Montilla y J.M. Serradilla 1998. Small Rumin. Res. 29: 255-259.

Okut H., C.M. Browley, L.D. Van Vleck y G.D. Snowder. 1999. J.Anim. Sci. 77: 2372-2378.

Fitzhugh H.A. Jr. 1976. J. Anim. Sci. 42:1036-1051.

Sierra A. J. V. Delgado, A. Molina, C. Barba, F. Barajas y A. Rodero 1998. World Merino Conference, 29-31 March, 1998, Chrischurch, New Zeland , 3 pag.

Wilson D.E. , M. F.Rothschild, M.V. Bogges y D.G. Morrical. 1996. J. Anim. Breed. Genet. 113:29-41.

CARACTERES DE LACTACIÓN EN CABRAS MURCIANO-GRANADINAS DE LA COMUNIDAD VALENCIANA: ESTUDIOS PRELIMINARES SOBRE LOS FACTORES DE VARIACIÓN**

Gómez E.A., Silvestre M.A. [a], Martínez B. [b], Peris C. [c]

Dpto. Ganadería. I.V.I.A. Ctra. Moncada-Náquera km 4,5. 46113 Moncada. Valencia.
[a]Conselleria de Agricultura, Pesca y Alim. Generalitat Valenciana. 46010 Valencia.
[b]AMURVAL. Trinidad, 1. Silla. 46460 Valencia.
[c]Dpto. Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia. 46071 Valencia.

INTRODUCCIÓN

A propuesta de la Asociación de Ganaderos de Caprino de Raza Murciano Granadina de la Comunidad Valenciana (AMURVAL), integrados en la Asociación Española de Criadores de Caprino de Raza Murciano Granadina (ACRIMUR) se ha puesto en marcha un programa complementario para la mejora genética de esta raza caprina lechera, que sigue siendo la de mayor censo en nuestro país. Como trabajo de partida, hemos estudiado los factores que nos permitan explicar parte de la variación observada para una mejor predicción de los valores genéticos en los modelos de análisis a utilizar en las evaluaciones. Analizaremos los caracteres primarios estandarizados de producción de leche, porcentaje de grasa, de proteína y de extracto seco y el recuento de células somáticas.

MATERIAL Y METODOS

Se partió de la base de datos del Control Lechero Oficial de las explotaciones de AMURVAL, entre los años 1994 y 2002 (6774 lactaciones). Los intervalos entre controles son en la actualidad de 42 días, realizándose un único ordeño diario. Se utilizaron medidores volumétricos para controlar in situ la cantidad de leche, mientras que para su composición (análisis de grasa, proteína y extracto seco) se utilizó un equipo Milkoscan 133, y para el recuento de células somáticas un Fossomatic 90.

Los datos analizados en este trabajo fueron los valores de cantidad de leche, porcentajes de grasa, de proteína y de extracto seco, y recuento de células somáticas estandarizados a 150 días para la primera lactación y de 210 días para las restantes por el método de Fleischmann. Sólo se consideraron como válidas las lactaciones con tres o más controles (ICAR, 2001). Para su análisis se utilizó un modelo mixto, incluyendo la cabra como efecto aleatorio, y los siguientes efectos fijos: Año de parto (entre 1994 y 2002), Ganadería (16 niveles), Mes del parto (enero-diciembre), Número de parto (1, 2, 3, 4 y siguientes), Número de crías (1, 2, 3-4, aborto tardío y desconocido) y Número de controles (5 niveles: 3, 4, 5, 6 y >6).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los principales resultados se presentan en la Tabla 1. Los valores medios de producción estandarizada son similares a los calculados por Martínez y Peris (2002). Las diferencias entre ganaderías en producción de leche fueron significativas, siendo la máxima de 139 kg. entre rebaños extremos. La importancia de este efecto también fue destacada por Oliver y col. (2000), explicándose en términos de

cambios en localización y alojamientos, sanidad, alimentación, manejo reproductivo, e incluso de nivel genético. A la vista de las medias mínimo cuadráticas por año de parto, se apreció una reducción de la producción entre 1994 y 1997, y un crecimiento desde entonces hasta la actualidad. Las mayores producciones correspondieron a las lactaciones cuyo parto se producía en el mes de marzo y las menores a las del mes de septiembre, a diferencia de las apreciaciones de Carrizosa y col. (1993) en que aparecían las mayores producciones en los partos de otoño; pero coinciden con Gutierrez (1995) y Oliver y col. (2000), o de Vega y col. (1999) en la raza Florida y de Crepaldi y Corti (1999) en la raza Alpina, con mayores registros en los partos de primavera. La producción de leche aumentaba con el número de crías. El máximo de producción se alcanzó en torno al tercer parto como en Vega y col. (1999), y a diferencia que en Lafuente y col. (1993) o en Oliver y col. (2000) en que las mayores producciones correspondían a partos posteriores.

El porcentaje de proteína es uno de los posibles caracteres objeto de selección, y presentó un valor medio de 3.41%, menor que el obtenido por Díaz (1993), pero superior a otros trabajos sobre esta misma raza. Se observaron diferencias entre ganaderías del orden de 0.36 puntos porcentuales, siendo éste el factor fijo que explicó el mayor porcentaje de la variación observada. Se observó un aumento en este carácter desde 1994 hasta 2000 (0.73 puntos), al igual que en Martínez y Peris (2002), o en Oliver y col. (2000) con producciones de Castilla- La Mancha, y un ligero descenso posteriormente. Este aumento podría explicarse por las decisiones sobre la reposición de machos de los ganaderos en función de la informaciones aportadas por el control lechero. El análisis mensual presentaba mínimos en las lactaciones con fechas de parto en torno al mes de marzo (3.21%) y máximos en las lactaciones con fecha de parto en torno al mes de septiembre (3.57%), semejante a los resultados de Carrizosa y col. (1993) con máximos en los partos entre agosto y noviembre. El número de crías afectó significativamente, reduciéndose al aumentar éstas. Con respecto al número de parto, se observó una reducción con el paso del tiempo, a diferencia de los resultados de Lafuente y col. (1993) o Martínez y Peris (2002) en que indicaban un mínimo para los primeros partos.

La tasa butírica media observada fue del 5.02% en el conjunto de lactaciones consideradas, similar otros trabajos sobre la misma raza (Carrizosa y col., 1993; Díaz, 1993). Entre ganaderías, la diferencia máxima estimada fue de 1.0 punto porcentual, siendo de nuevo el factor que más variación explicaba, al igual que en Oliver y col. (2000). No se observó entre las estimas anuales una pauta concreta de variación. Dentro de año, se observaron máximos contenidos grasos en las lactaciones con fecha de parto entre agosto y diciembre y mínimos en los partos entre enero y julio, como en Oliver y col (2000) con mínimos de producción grasa en partos entre marzo y mayo. El mayor contenido se observó en los partos simples. También se apreció un aumento del contenido graso a medida que progresaba la edad de la madre, con mínimos en primeros partos y máximos en torno al cuarto parto (5.04%), de acuerdo con los resultados preliminares de Lafuente y col. (1993).

El extracto seco total presentó una media de 13.8 g por 100 g de leche. Entre rebaños, la máxima de las diferencias fue de 0.88 g. Como se ha indicado para otros contenidos, se apreció una tendencia alcista desde 1994 hasta 2001. Con respecto al mes de parto, la menor concentración aparecía en los partos de marzo y la máxima en los de septiembre. No se observaron diferencias significativas entre

lactaciones. Se analizó el logaritmo decimal del recuento de células somáticas, observándose diferencias entre ganaderías de 0.62 (que equivale a 793.642 células). Se apreció una ligera reducción desde el año 2000. Respecto a la variación mensual, los valores máximos se midieron en las lactaciones con parto en mayo y los mínimos en noviembre. Hubo un aumento del recuento al aumentar el número de crías paridas, así como al aumentar el número de parto.

Las repetibilidades estimadas para producción de leche y porcentaje de grasa fueron ligeramente inferiores a las estimadas por Jiménez y col. (1993), aunque fue superior la repetibilidad estimada para porcentaje de proteínas. En una primera fase nos deberemos apoyar en las valoraciones genéticas intrarrebaño, al no existir conexión entre los rebaños, teniendo que asumir que no existen diferencias entre rebaños en cuanto a valores genéticos.

Tabla 1.- Número de datos (n), porcentaje de la variación total explicada por los efectos fijos y aleatorio (en negrita) y medias mínimo cuadráticas para los efectos número de parto y número de crías paridas, para los caracteres kilogramos de leche (KL), porcentajes de materia grasa (MG), de proteína (PR) y de extracto seco (ES) y logaritmo decimal del recuento de células somáticas (LogRCS).

	KL	MG	PR	LogRCS	ES
Efectos		n= 6774		n= 3841	n= 6760
Ganadería	**8.0%**	**12.1%**	**10.3%**	**11.4%**	**12.4%**
Año	**2.2%**	**4.9%**	**8.6%**	**0.2%**	**5.3%**
Mes	**0.8%**	**4.9%**	**6.2%**	**1.7%**	**7.9%**
N° Parto	**17.6%**	**0.7%**	**0.2%**	**10.8%**	**0.03%**
1	219 a (5.4)	4.88 a (0.041)	3.45 c(0.016)	5.46 a(0.025)	13.73 (0.047)
2	359 b (5.5)	4.99 b (0.042)	3.41 b(0.016)	5.65 b(0.024)	13.72 (0.048)
3	386 d (5.8)	5.05 bc(0.044)	3.41 b(0.018)	5.83 c(0.025)	13.75 (0.051)
4	381 cd(6.4)	5.10 c (0.048)	3.40 b(0.020)	5.96 d(0.028)	13.77 (0.056)
>4	373 c (7.0)	5.08 c (0.053)	3.37 a(0.022)	5.01 e(0.028)	13.74 (0.062)
N° Crías	**10.0%**	**0.6%**	**0.6%**	**3.9%**	**0.6%**
1	335 a (4.0)	5.01 b (0.030)	3.40 b(0.013)	5.75 a(0.019)	13.73 b(0.036)
2	359 b (4.0)	4.92 a (0.030)	3.38 a(0.013)	5.77 a(0.017)	13.63 a(0.036)
>2	368 b (6.0)	4.92 a (0.046)	3.37 a(0.018)	5.83 b(0.028)	13.56 a(0.053)
Controles	**10.9%**	**0.8%**	**2.0%**	**1.2%**	**1.0%**
Hembra	**33.0%**	**28.0%**	**62.0%**	**47%**	**42%**

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Carrizosa J.A., Falagán A., Urrutia B., Lafuente A., 1993. ITEA, Vol.extra, 12(1): 3-5.
Crepaldi P., Corti M., 1999. Small Ruminant Research, 32(1): 83-88.
Diaz E., 1993. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
Gutierrez M.J., 1995. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.
ICAR, 2001. Recording guidelines. Section 2.2 Appendix B.
Jiménez I., Analla M., Falagán A., 1995. Ovis, 38: 47-55.
Lafuente A., Falagán A., Urrutia B., Carrizosa J.A. 1993. ITEA, Vol. extra, 12(1): 6-8.
Martínez B., Peris C. 2002. Actas XXVII Jornadas SEOC, 296-301.
Oliver F., Pérez-Guzmán M.D., Pérez E.M., Montoro V., 2000. Actas XXV Jornadas SEOC, 430-432.
Vega J.F., Peña F., Sánchez M., 1999. Actas XXIV Jornadas SEOC: Com. 2

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 561-563

ESTIMACIÓN DEL NÚMERO DE DATOS FALTANTES EN POBLACIONES SELECCIONADAS

G. Yagüe[1], C. Moreno[1], L.A. García-Cortés[2] y J. Altarriba[1]
[1] Genética cuantitativa y Mejora animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
[2] Departamento de Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Madrid.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de poblaciones sometidas a un proceso de pérdida de información no ignorable, como consecuencia de la aplicación de una estrategia de selección, requiere la inclusión de dicho proceso en el modelo para garantizar la obtención de resultados insesgados (Im et al.,1989; Gianola et al., 1989).

Sin embargo, la resolución analítica de casos donde no sólo se pierden observaciones sino que también se desconoce su número no es inmediata (Yagüe et al., 2000).

El objetivo de este trabajo es presentar un procedimiento "ad hoc" que permita realizar estimaciones insesgadas de los parámetros de poblaciones donde se desconoce el número de datos perdidos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para presentar este procedimiento se considera un caso sencillo, una distribución normal con media μ y varianza σ^2, donde sólo se observan n_o valores que superan el punto de truncamiento t (conocido), siendo n_m el número de datos menores que t desconocido. La proporción de población desconocida queda definida según $p = \Phi\left(\frac{t-\mu}{\sigma}\right)$, cumpliéndose, además, la siguiente relación:

$$\frac{n_m}{n_o} = \frac{p}{1-p} \qquad [1]$$

de tal manera que si se conocen n_o y p, es posible calcular el número de datos faltantes, n_m, a partir de [1]

Supongamos ahora que no se dispone de una sola distribución, sino de una mezcla de ellas, dado que puede asumirse que cada dato y_i procede de una distribución normal i, con media μ_i y varianza σ^2. Consideramos el mismo punto de truncamiento t y los mismos n_o y n_m en el conjunto de la población, siendo p la proporción de valores perdidos referidos al total de la población. Si definimos p como:

$$p = E\left[\Phi\left(\frac{t-\mu_i}{\sigma}\right)\right] \approx \frac{\sum_{i=1,n}\left[\Phi\left(\frac{t-\mu_i}{\sigma}\right)\right]}{n}$$

entonces n_m puede obtenerse utilizando [1]. A partir de estas expresiones es posible realizar inferencias en casos donde se desconoce el número de datos perdidos llevando a cabo los dos pasos siguientes hasta obtener convergencia:

- estimar las variables del modelo (mediante muestreo de Gibbs) condicionado al conocimiento del número de observaciones perdidas.
- "estimar" el número de observaciones perdidas fuera del proceso de Gibbs, a partir de la expresión anterior, usando los valores de las estimaciones obtenidas en el primer caso.

Sea ahora el modelo animal mixto $y=XB+Zu+Ie$, donde y es el vector de fenotipos, B es el vector de un efecto fijo de 20 niveles, u el vector de valores genéticos aditivos y e el vector de residuos del modelo. Se simulan dos generaciones, con 2000 individuos en la población base (G_0) y 3000 en la generación filial (G_1), realizándose selección fenotípica por truncamiento en ambas generaciones (los puntos de truncamiento son conocidos) y perdiéndose toda la información referente a los individuos no seleccionados, incluyendo su cantidad. Como consecuencia de la inclusión del proceso de pérdida de información en el modelo se obtiene un modelo mezcla (*mixture model*) donde el número de componentes es desconocido (Yagüe et al., 2000).

Estudiamos dos casos, donde tanto en G_0 como en G_1 se selecciona a un 50% y un 30% de los individuos (p=0.5 para el primer caso y p=0.7 para el segundo). El número de observaciones perdidas se estima independientemente para cada generación, siendo $n_{m(G0)}$ este número para la población base y $n_{m(G1)}$ para la generación filial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran los resultados para las dos proporciones de datos perdidos (Tabla 1: p=0.5; Tabla 2: p=0.7) y para dos intervalos de valores del efecto fijo de 20 niveles (200-240; 200-216), siendo *v(a)* la varianza genética aditiva, *v(e)* la varianza residual, h^2 la heredabilidad, *ntot* el tamaño global de la población y *b(i)* el nivel *i* del efecto fijo. Entre paréntesis se encuentran las desviaciones típicas.

Tabla 1: Estimas de las variables en una población con selección fenotípica del 50%.

	Proporción de datos perdidos (p) = 50% (250 repeticiones)					
Variable	V. simulado	Valor estimado		V. simulado	Valor estimado	
v(a)	20.0	21.216	(3.674)	20.0	21.619	(5.148)
v(e)	80.0	82.300	(5.010)	80.0	86.394	(8.386)
h^2	0.20	0.205	(0.033)	0.20	0.200	(0.045)
$n_{m(G0)}$	1000	1055.1	(100.3)	1000	1161.4	(170.3)
$n_{m(G1)}$	1500	1555.2	(112.6)	1500	1690.1	(205.8)
ntot	5000	5110.3	(190.0)	5000	5351.6	(358.3)
b(1)	200.00	198.94	(2.304)	200.00	199.10	(1.343)
b(10)	218.95	218.59	(1.028)	207.58	206.62	(1.348)
b(20)	240.00	239.87	(0.708)	216.00	215.09	(1.272)

Tabla 2: Estimas de las variables en una población con selección fenotípica del 30%.

	Proporción de datos perdidos (p) = 70% (950 repeticiones)					
Variable	V. simulado	Valor estimado		V. simulado	Valor estimado	
v(a)	20.0	22.290	(6.060)	20.0	23.014	(5.890)
v(e)	80.0	86.636	(8.712)	80.0	96.584	(13.418)
h^2	0.20	0.204	(0.052)	0.20	0.194	(0.048)
$n_{m(G0)}$	1400	1423.7	(171.2)	1400	2044.0	(507.0)
$n_{m(G1)}$	2100	2089.3	(229.9)	2100	2836.6	(615.3)
ntot	5000	5012.9	(364.4)	5000	6380.6	(1082.4)
b(1)	200.00	200.77	(1.813)	200.00	197.00	(2.357)
b(10)	218.95	217.85	(1.418)	207.58	204.79	(2.104)
b(20)	240.00	239.19	(1.080)	216.00	213.09	(2.248)

Se observa que la estrategia presentada es capaz de recuperar gran parte de la información perdida, obteniéndose en general unas estimaciones aceptables para los valores simulados. Por otra parte, se consiguen mejores estimas con el mayor de los intervalos de valores de los niveles del efecto fijo (200 a 240), hecho justificado por la mayor capacidad informativa de dichos niveles. Asimismo, es necesario

resaltar que incluso en casos extremos (30% de datos conocidos) los resultados siguen siendo satisfactorios, si se comparan con otras alternativas (modelo Tobit, por ejemplo).

Esta estrategia también ha sido aplicada a un modelo mixto con un factor fijo de 400 niveles y con un intervalo regular entre ellos de 200 a 240. En la Tabla 3 se muestran los resultados, para un 50% de población seleccionada. Las variables se estiman, por un lado, considerando al efecto fijo como tal (Modelo A) y, por otro, considerándolo como un factor aleatorio (Modelo B), donde μ es la media general y *v(f)* es la varianza del factor aleatorio.

Tabla 3: Estimas de las variables de un modelo mixto con un factor fijo de 400 niveles y una selección del 50%.(200 repeticiones)

Efecto estimado como fijo (Modelo A)				Efecto estimado como aleatorio (Modelo B)			
Variable	V. simulado	V. estimado		Variable	V. simulado	V. estimado	
				μ	220.0	223.097	(0.726)
v(a)	20.0	37.017	(10.454)	*v(a)*	20.0	20.789	(4.352)
v(e)	80.0	208.790	(37.998)	*v(e)*	80.0	66.101	(4.421)
h^2	0.20	0.153	(0.043)	h^2	0.20	0.238	(0.047)
				v(f)	134.0	75.354	(6.002)
$n_{m(G0)}$	1000	2362.3	(472.7)	$n_{m(G0)}$	1000	478.9	(62.5)
$n_{m(G1)}$	1500	3165.6	(561.9)	$n_{m(G1)}$	1500	719.9	(80.3)
ntot	5000	8028.0	(1011.0)	*ntot*	5000	3698.9	(132.3)
b(1)	200.00	191.83	(4.365)				
b(200)	223.96	210.55	(5.327)				
b(400)	240.00	230.18	(6.805)				

Los resultados obtenidos permiten afirmar que, utilizando la estrategia de la estimación del número de datos faltantes, las estimas son mejores cuando se considera al factor fijo de 400 niveles como un efecto aleatorio. Comparando el Modelo A con las Tablas 1 y 2 se manifiesta el empeoramiento de los resultados debido al aumento de niveles y, por tanto, a la disminución del número de observaciones por nivel. Sin embargo, el Modelo B, si bien la mayoría de las variables están considerablemente infraestimadas, supone una alternativa para este tipo de situaciones.

Como conclusión podemos decir que el procedimiento presentado aparece como una herramienta eficaz en el tratamiento de poblaciones donde la selección ha producido una pérdida de información no ignorable y de magnitud desconocida, situaciones en las que utilizando otros procedimientos no se obtienen resultados aceptables.

REFERENCIAS

- Gianola, D., Fernando, R.L., Im, S. et Foulley, J.L. 1989. "Likelihood estimation of quantitative genetic parameters when selection occurs: models and problems." Genome, **31**:768-777.
- Im, S., Fernando, R.L., y Gianola, D. 1989. "Likelihood inferences in animal breeding under selection: a missing-data theory view point". Genet. Sel. Evol., **21**:399-414.
- Yagüe, G., Moreno, C., García-Cortés, L.A. y Altarriba, J. (Caldes de Montbui, 2000). "Inferencia en poblaciones donde se desconoce la cantidad de información perdida". X Reunión Nacional de Mejora Genética Animal.

MEJORA DEL MODELO DE VALORACIÓN GENÉTICA ACTUAL PARA EL CARÁCTER FACILIDAD DE PARTO EN GANADO VACUNO FRISÓN

López de Maturana, E.[1]; Ugarte, E.[1]; Ugarte, C.[2]
[1]NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz
[2]ABEREKIN, S. A. Barrio Arteaga, 25. 48016 Derio (Vizcaya)

INTRODUCCIÓN

La reducción de la incidencia de partos distócicos es importante tanto desde un punto de vista reproductivo como productivo, ya que la presencia de un parto difícil en la explotación induce a pérdidas económicas notables, ocasionadas por el aumento de la mortalidad, la disminución de la fertilidad, el aumento de los requerimientos de mano de obra y de los costes veterinarios, así como pérdidas en la producción de Kg de leche, de grasa y proteína refiriéndonos concretamente al vacuno lechero (Dematawewa y Berger 1997). Este problema ha sido abordado dentro de programas de mejora genética en los que a través de la valoración genética de los animales se pretende detectar aquellos sementales que transmiten dificultad de parto, con el fin de no utilizarlos en novillas ni en vacas que hayan tenido problemas de distocia en lactaciones anteriores.

En la Comunidad Autónoma del País Vasco, la valoración genética del carácter de facilidad de parto se puso en marcha en el año 1995, mediante la utilización de un modelo macho aplicando para su resolución la metodología umbral (Alday *et al.* 1997). En aquel momento se planteó ya la necesidad de mejorar el modelo de evaluación incluyendo otros componentes genéticos y a lo largo de este tiempo se han detectado diversos problemas relacionados tanto con el modelo como con la recogida del dato. Aunque actualmente están siendo abordados ambos aspectos, en este trabajo se presentan aquellos relacionados con la mejora del modelo de evaluación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos empleados para la realización de este estudio proceden de la base de datos de control lechero de la CAPV, Navarra y Gerona, y fueron recogidos entre los años 1992 y 2002. Para la recogida del dato se utiliza la siguiente escala de carácter discreto: **0**-ausencia de datos, **1**-sin ayuda, **2**-ligera ayuda, **3**-parto difícil, que requiere la ayuda de dos o más personas y/o la colocación del aparato de partos, **4**-cesáreas provocadas por un tamaño excesivo del ternero y **5**-fetotomías, malas presentaciones del ternero, malformaciones fetales o cesáreas motivadas por otras causas.

En el proceso de depuración de los datos, además de eliminar los datos anómalos, se han eliminado los partos múltiples, las regiones- años con más del 95 % de los datos recogidos en la clase 1 o aquellas en las que el número de datos correspondientes a machos nacidos era menor de un 20 % (Ducrocq 2000). Además, se han eliminado los grupos de comparación que no tuvieran al menos 10 datos y aquellos machos con menos de 10 datos. En relación con la longitud de gestación, se exigió que tuviera un valor comprendido entre 264 y 294 días (Mc Guirk *et al.* 1999). En cuanto a la edad al parto de la hembra, se exigió que al primer parto la edad mínima fuera de 18 meses y la máxima de 40, mientras que en partos posteriores, la edad mínima se estableció en 28 meses y la máxima en 206. Por último, se exigió que todas las vacas tuvieran el primer parto registrado.

Con el fin de trabajar con datos recogidos con una mayor precisión se utilizaron únicamente los datos recogidos a partir del año 1995.
Las clases 3 y 4 se agruparon en una sola debido al escaso número de datos existente en las mismas. La descripción de los datos utilizados se muestra en la tabla 1.

Tabla nº1 Características de los datos analizados

Nº de datos	52227
Toros con datos	890
Hembras con datos	29567
% clase 1	55.26
% clase 2	42.06
% clases 3 y 4	2.68

Los datos fueron analizados utilizando dos modelos:

1) Modelo animal con efectos maternos aplicando metodología lineal (MAML)

$$\mathbf{Y= X\,\beta + Z_1 u_d + Z_2 u_m + \varepsilon},$$

donde:

- **y** es el vector de los valores fenotípicos
- **X**, $\mathbf{Z_1}$y $\mathbf{Z_2}$ son las matrices de incidencia de los "efectos fijos", de los efectos aleatorios directos y maternos, respectivamente.
- **β** es el vector de los "efectos fijos", que incluye:
  - rebaño* año de parto* controlador (2860 niveles).
  - el mes de parto (12 niveles).
  - la interacción número de parto *sexo del ternero (4 niveles).
- $\mathbf{u_d}$ es el vector de los efectos directos, cuya distribución es $\mathbf{N(\,0,\, A\sigma^2_d)}$, donde **A** es la matriz de parentesco de los animales y σ^2_d , la varianza de los efectos directos.
- $\mathbf{u_m}$ es el vector de los efectos maternos, cuya distribución es $\mathbf{N(\,0,\, A\sigma^2_m)}$, donde σ^2_m, es la varianza de los efectos maternos.
- **ε** es el vector de los efectos aleatorios residuales, cuya distribución es $\mathbf{N(\,0,\, I\,\sigma^2_e)}$ siendo **I** la matriz de identidad y σ^2_e la varianza residual.

Para la aplicación y resolución del modelo, se utilizó el paquete **VCE** (Groeneveld 1998) en la estimación de componentes de varianza y el paquete **PEST** (Groeneveld *et al.* 1990) para la predicción de los valores genéticos de los animales. Para la estimación de los componentes de varianza se utilizó una sola cadena de Gibbs, con una longitud de 135000 muestras, de las que se descartaron las 35000 primeras.

2) Modelo macho abuelo materno aplicando metodología umbral (MAMU)

$$\mathbf{y= X\,\beta + Z_1 u_s + Z_2 u_{mgs} + \varepsilon},$$

donde el efecto directo es $\mathbf{u_s}$, que corresponde al vector de los valores genéticos de los machos, cuya distribución es $\mathbf{N(\,0,\, A\sigma^2_s)}$, donde **A** es la matriz de parentesco de los machos y σ^2_s es la varianza del efecto macho y $\mathbf{u_{mgs}}$ que corresponde al efecto materno, es el vector de los valores genéticos de los abuelos maternos de los terneros, cuya distribución es $\mathbf{N(\,0,\, A\sigma^2_{smgs})}$, siendo σ^2_{smgs} la varianza del efecto materno.

El software utilizado tanto para la estimación de los componentes de varianza como para la estimación de los componentes genéticos es el **MTGSAM**(Van Tassell y Van Vleck 1996). Para la estimación de los componentes de varianza se utilizó una sola cadena de 275000 muestras de longitud, descartándose las 5000 primeras. Además, las muestras fueron guardadas cada 10 iteraciones, con lo que el total de muestras fue de 27000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados preliminares, a pesar de no haber alcanzado la convergencia deseada, se presentan en la siguiente tabla.

Tabla nº2. Parámetros genéticos estimados utilizando ambos modelos

MODELO	σ^2_d	σ^2_s	σ^2_m	σ^2_{mgs}	σ_{dm}	σ^2_e	h^2_d	h^2_m	ρ_{dm}
MAML	0.008	-	0.004	-	-0.005	0.124	0.06	0.033	-0.546
MAMU	-	0.0048	-	0.0022	-0.0056	0.1423	0.128	0.064	-0.412

De acuerdo a lo esperado y puesto que la metodología umbral se adecua de mejor manera a los caracteres categóricos (Gianola 1983; Weller y Gianola 1989), las estimas de heredabilidad fueron mayores en el modelo MAMU. Las estimas de la varianza del efecto materno fueron en ambos modelos la mitad de las correspondientes a los efectos directos, acorde a lo presentado por otros autores (Luo *et al.* 2002).

Las estimas de la correlación genética obtenidas por ambos modelos son negativas, al igual que las obtenidas en otros estudios(Groen *et al.* 1998). Las correlaciones de Pearson y Spearman entre los valores genéticos obtenidos con ambos modelos se muestran en la Tabla nº 3.

Tabla nº 3. Correlaciones entre los valores genéticos obtenidos por los modelos MAMU y MAML.

Correlación de Pearson	Correlación de Spearman
0.74	0.71

Analizando los resultados, se puede afirmar que la ordenación de los animales según su valoración genética variará de forma notable en función del modelo utilizado, de acuerdo a los resultados obtenidos anteriormente en esta población (Alday *et al.* 1997), aunque en desacuerdo con lo publicado por otros autores (Weller y Gianola 1989). Sin embargo, estos mismos autores comentan que las correlaciones pueden ser diferentes cuando se trabaja con datos extremadamente desequilibrados con respecto a los efectos del modelo y en nuestro caso el escaso porcentaje de datos en la clase 3, puede estar condicionando los resultados obtenidos.

Será necesario volver a realizar los análisis una vez se hayan solucionado los problemas de convergencia. Asimismo se prevé la aplicación de un modelo animal bajo la metodología umbral, con el fin de poder predecir los valores genéticos de las hembras, aspecto interesante demandado por los ganaderos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Alday, S., E. Ugarte y C. Ugarte (1997). ITEA Volumen Extra, Número 18 - Tomo I: 333-335.

Dematawewa, C. M. B. y P. J. Berger (1997). Journal of Dairy Science 80: 754-761.

Ducrocq, V. (2000). Proceedings of the 2000 Interbull meeting, Bled, Slovenia: 123-130

Gianola, D. (1983). Journal of Animal Science 54: 1079-1096.

Groen, A. F., J. P. J. M. Van Aubel y A. A. Hulzebosch (1998). Proc. 6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, Australia.

Groeneveld, E. (1998). VCE4; Users Guide and Reference Manual Vs 1.3.

Groeneveld, E., M. Kovac y T. Wang (1990). Proceedings of 4th World Congress on Genetics applied to Livestock Production.

Luo, M. F., B. P. J., D. J.C.M. y L. R. Schaeffer (2002). Livestock Production Science 74: 175-184.

Mc Guirk, B. J., I. Going y A. R. Gilmour (1999). Animal Science 68: 413-422.

Van Tassell, C. P. y L. D. Van Vleck (1996). Journal of Animal Science 74: 2586-2597.

Weller, J. I. y D. Gianola (1989). Journal of Dairy Science 72: 2633-2643.

USO DE LA CORRELACIÓN DEL ERROR DE PREDICCIÓN COMO MEDIDA DE LA CONEXIÓN ENTRE GRUPOS DE COMPARACIÓN

Moreno A., Carabaño M. J., Díaz C.
Dpto. de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)

INTRODUCCIÓN

La metodología BLUP a través de los modelos mixtos permite obtener valoraciones genéticas de animales en diferentes ambientes o rebaños. Los valores genéticos predichos para animales con realizaciones en diferentes unidades de manejo sólo son comparables si existe conexión entre ellas. En poblaciones donde la inseminación artificial está sistemáticamente establecida, el esquema de machos de referencia genera conexiones entre unidades de manejo (Kennedy y Trus, 1993; Simm y col., 2001), pero aún en estas poblaciones pueden darse bolsas de información aislada, con intercambio de material genético limitado a determinadas zonas. Los criterios más utilizados para determinar el grado de conexión son la varianza del error de predicción (Kennedy y Trus,1993), los coeficientes de conexión de Foulley y col., 1992, el coeficiente de determinación (Lalöe, 1993) y la correlación entre valores genéticos predichos (Lewis y col., 1999). Estos criterios están relacionados con la obtención de varianzas y covarianzas del error de predicción, lo cual requiere la inversión de la matriz de coeficientes de las ecuaciones del modelo mixto (**C**). García Cortés (1995) y Harville(1999) proponen técnicas de muestreo Gibbs para obtener la inversa de una matriz definida positiva, lo cual permitiría obtener los elementos de la diagonal y algunos elementos de fuera de la diagonal que podrían utilizarse para determinar la conexión (Foiulloux y Lalöe, 2001).
El objetivo del presente trabajo es comparar diferentes criterios que permitan determinar el grado de conexión y la identificación de posibles bolsas de información. Para ello se estudió el comportamiento de diferentes criterios de conexión en una población simulada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se simularon distintos escenarios para una población con seis machos padres de datos, cada uno de los cuales tenía 24 hijos, cada hembra tenía un descendiente. Los padres de datos no tenían información para el carácter. El modelo utilizado para generar la población fue un modelo animal, donde sólo se consideró el rebaño (con tres niveles) como efecto sistemático. La heredabilidad (h^2) del carácter fue de 0.3. Se simularon diferentes situaciones en cuanto al grado conexión y parentesco entre machos padres de datos. En el diseño D1, los machos sólo tienen descendencia dentro de rebaños(en el rebaño uno los machos 1-2; en el dos los machos 3-4, en el rebaño tres los machos 5-6), en el diseño D2 los machos tienen descendencia dentro de rebaño excepto el macho tres que se utiliza como macho de conexión y tiene idéntico número de descendientes en los tres rebaños, por último en el diseño D3 todos los machos tienen idéntico número de descendientes en los tres rebaños. En el esquema A1 no existe ninguna relación de parentesco entre padres de datos y en el esquema AA0 se generó una relación de parentesco de medio hermanos entre pares de machos 1-2, 3-4 y 5-6.
La inversa de **C** se obtuvo utilizando técnicas de muestreo Gibbs (García-Cortés; 1995; Harville,1999).

El algoritmo utilizado es: $x_i / x_{-i} = -\sum \frac{c_{i\ j}\ x_j}{c_{ii}} + \varphi \sqrt{\frac{1}{c_{ii}}}$; $c_{ii\ -1} = \frac{\sum x_i^2}{n}$; $c_{i\ \ j\ -1} = \frac{\sum x_i\ x_j}{n}$

Donde c_{ij} representa el elemento ij de **C**, ϕ indica el valor obtenido del muestreo de la normal (0,1), x_i es el elemento i correspondiente del vector x. c_{ii}^{-1} y c_{ij}^{-1} son los elementos ii e ij de la inversa de **C**, respectivamente, y n representa el número de iteraciones menos el período de calentamiento. En el programa utilizado se determina un período de quemado de 5000 iteraciones y se fijó el número total de iteraciones a 100.000.

Se calcularon los cocientes de contraste $\gamma'_{ii'} = \frac{L'_{ii'} C^{-}_{R} L_{ii'}}{L'_{ii'} C^{-}_{F} L_{ii'}}$ (Foulley et al, 1990), cuyo valor oscila entre 0 y 1, entre pares de machos padres de datos para los diseños D1, D2 y D3 en los esquemas A1 y AA0. Donde $L_{ii'}$ es el vector de contrastes entre machos, C^{-}_{R} y C^{-}_{F} son la inversa del LHS de las MME de los modelos reducido (sin efecto rebaño) y completo, respectivamente.

Se determinó el coeficiente de conexión estandarizado $\gamma^{*} = \gamma^{1/rangoC}$ como $\gamma = e^{-2D}$ siendo $D = -1/2 ln \frac{|C^{-}_{R}|}{|C^{-}_{F}|}$ (Foulley et al.,1992). Los determinantes $|C^{-}_{R}|$ y $|C^{-}_{F}|$ fueron calculados tanto para toda la parte aleatoria del modelo como sólo para los padres de datos. La correlación media para machos se determinó a partir de la correlación entre valores genéticos predichos entre pares de padres (machos) (Kennedy y Trus,1993; Lewis et al., 1999).

El tamaño efectivo para cada macho fue obtenido como: $n_{e(j)} = \sum_{i} \frac{n_{ij}(n_{i.} - n_{ij})}{n_{i.}}$ (Schmitz et al., 1991). Siendo $n_{e(j)}$ el tamaño efectivo del macho j. n_{ij} el número de hijos del macho j en el rebaño i. $n_{i.}$ el número de animales en el rebaño i. $n_{.j}$ el número de animales del macho j.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra los cocientes de contraste (γ) entre machos padres de datos para el diseño A1 sobre la diagonal y para el diseño AA0 bajo la diagonal. Se observa que en situaciones donde no existe conexión A1 y AA0, bajo el diseño D1 para machos con descendencia en diferentes rebaños, el (γ) entre machos es distinto de cero, por tanto este criterio no permite identificar situaciones de pérdida de conexión. Introducir relaciones de parentesco entre machos dentro de rebaño no ayuda a identificar la pérdida de conexión. Se observa que cuando se generan relaciones de parentesco entre machos con descendencia dentro rebaños disminuye el cociente de contraste. El mayor (γ) de contrastes correspondió a animales con descendencia en el mismo rebaño. En el D2 el mayor (γ) correspondió a contrastes que involucran el macho 'conectante' y el menor γ correspondió a los contrastes que involucran al macho cuatro. Esto puede ser debido a la diferencia en tamaño efectivo (n_e) de machos en el D2, n_e de 19.7 y 6.0 para los machos tres y cuatro respectivamente, para el resto de machos el n_e fue de 13.7. En los diseños D1 y D3 el n_e fue idéntico para todos los machos (12.0 para D1, 20.0 para D3). Hanocq y Boichard (1999) en Holstein francés encuentran que el grado de conexión disminuye con el incremento de parentesco dentro de grupo, los autores lo justifican por la reducción del tamaño efectivo del grupo debido al parentesco entre machos dentro de grupos.

Los resultados obtenidos para los coeficientes de conexión estandarizados (γ^{*}) se muestran en la Tabla 2. Se observa una reducción de los coeficientes en el esquema AA0 respecto al A1 cuando sólo se consideran los machos, ocurre lo contrario al considerar toda la parte aleatoria. Los mayores γ^{*} corresponden al D3, seguido del D2 y por último D1, como se esperaba . Este criterio no permite discriminar entre pérdida y no pérdida de la conexión porque existe un efecto de la cantidad de información.

La Tabla 3 presenta los resultados obtenidos para la correlación media entre machos padres de datos. La correlación media considerando todos los machos padres de datos aumenta al establecerse relaciones de parentesco entre machos. El mayor valor de

correlación se obtuvo para el D3 y la menor para el diseño D1. Hay que notar que este criterio tampoco produce un valor nulo en el diseño D1 en el que no existe conexión entre rebaños.

Tabla 1. Cociente del contraste entre machos modelo reducido al modelo completo (γ) . Por encima de la diagonal diseño A1, por debajo de la diagonal diseño AA0. ($h^2 = 0.3$)

	Macho 1			Macho 2			Macho 3			Macho 4			Macho 5			Macho 6		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
M1	---	---	---	0.86	0.86	0.86	0.44	0.70	0.86	0.44	0.47	0.86	0.44	0.52	0.86	0.44	0.52	0.86
M2	0.84	0.84	0.84	---	---	---	0.44	0.70	0.86	0.44	0.47	0.86	0.44	0.52	0.86	0.44	0.52	0.86
M3	0.35	0.62	0.82	0.35	0.62	0.82	---	---	---	0.86	0.66	0.86	0.44	0.70	0.86	0.44	0.70	0.86
M4	0.35	0.43	0.82	0.35	0.43	0.82	0.84	0.66	0.84	---	---	---	0.44	0.47	0.86	0.44	0.47	0.86
M5	0.35	0.45	0.82	0.35	0.45	0.82	0.35	0.62	0.82	0.35	0.43	0.82	---	---	---	0.86	0.86	0.86
M6	0.35	0.45	0.82	0.35	0.45	0.82	0.35	0.62	0.82	0.35	0.43	0.82	0.84	0.84	0.84	---	---	---

Tabla 2. Coeficientes de conexión estandarizados. Toda la parte aleatoria γ^* y sólo machos padres de datos(γ^*)

h^2	Diseño A1			Diseño AA0		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0.3	0.836 (0.50)	0.837 (0.55)	0.842 (0.72)	0.837 (0.44)	0.839 (0.51)	0.844 (0.67)

Tabla 3. Correlaciones medias entre machos padres de datos *. Correlación media entre machos, con descendencia en diferentes rebaños para diseño D1 y D2, correlación media de machos con el macho de conexión en el diseño D2 (subcaso 1) y correlación media entre machos D3 **

h^2	Diseño A1*			Diseño AA0*			Diseño A1**			Diseño AA0**		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
0.3	0.099	0.147	0.245	0.122	0.142	0.318	0.00	0.0043 (0.2058)	0.2449	0.00	0.0696 (0.2588)	0.3185

En D1 la correlación media entre machos con descendencia en diferentes rebaños es cero y añadir relaciones de parentesco entre machos dentro de rebaños no cambia la correlación dada. En los diseños D2 y D3 el establecimiento de parentesco entre machos mejora la conexión. La conexión para el D2 fue muy débil cuando se consideró la correlación media entre machos con descendencia en diferentes rebaños. Este criterio permite diferenciar situaciones donde no existe conexión, lo cual permitiría detectar bolsas de información.
Se propone utilizar el criterio de correlación media de valores genéticos directos predichos entre machos padres de datos con descendencia en distintos rebaños para efecto directo y la correlación media, para valores genéticos maternos predichos, entre abuelos maternos para efecto materno en las poblaciones de Limusín y Avileña Negra Ibérica.

REFERENCIAS

Fouilloux M. N, Laloë D., 2001.Genet. Sel. Evol., 33:473-486.
Foulley J. L., Hanocq E., Boichard D., 1992. Genet. Sel. Evol. 24: 315-330.
Foulley J. L., Bouix J., Elsen J. M., 1990. Gianola D., Hamond K.eds. Spring-Verlag, Heidelberg, 277- 308.
García Cortés L. A., 1995. 2nd European Workshop on Advanced Biometrical Methods in Animal Bredding. Salzburg Austria
Harville D. A., 1999. Linear Algebra and its Applications 289: 203-224.
Hanocq E., Boichard D., 1999. Genet. Sel. Evol. , 31:163-176.
Kennedy B.W.,Trus D., 1993.J. Anim. Sci., 71:2341-2352.
Lalöe D., 1993.Genet. Sel. Evol. 25:557-576.
Lewis R. M., Crump G., Simm G., Thompson R., 1999. In:Proc. Brit.Soc. Ani. Sci., Scarbourgh, U.K. p. 121(Abst.)
Schmitz F., Everett R. W. and Quass R. L., 1991. J. Dayiry Sci. 74: 629-636.
Simm G., Lewis R. M., Collins J.E., Nieuwhof G. J., 2001.J. Anim. Sci.79 (E.Suppl):E255-E259.

PLEIOTROPIA O LIGAMIENTO. FACTOR DE BAYES VS. MINIMOS CUADRADOS MULTIVARIANTES

L. Varona, L. Gomez-Raya, W. M. Rauw, J. L. Noguera.

Area de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. Lleida.

Introducción.

El mapeo de QTL se ha convertido en uno de los campos más activos en la genética estadística desde la publicación de los primeros mapas de las especies domésticas (Archibald et al., 1995; Barendse et al., 1997). Los experimentos de QTL generalmente involucran el registro de varios caracteres genéticamente correlacionados. Según Falconer y McKay (1995), las fuentes de la correlación genética son el ligamiento y la pleiotropía. En este sentido, Knott and Haley (2000) han propuesto recientemente un análisis de mínimos cuadrados multicarácter para detectar ligamiento, usando la pleiotropía como hipótesis nula.

Por otra parte, desde un punto de vista bayesiano, la comparación de modelos se resuelve mediante la utilización de Factores de Bayes (Kass y Raftery, 1995), que han sido utilizados para la discriminación entre pleiotropía y ligamiento en modelos de detección de QTL (Varona et al, 2002; Varona et al., 2003).

El objetivo de este trabajo es comparar los procedimientos de Knott y Haley (2000) y Varona et al. (2002) en el contexto de un experimento de simulación.

Simulación.

Se simularon poblaciones F2, donde las líneas parentales son homocigotas tanto para los QTL, como para 3 marcadores neutrales localizados en la misma fase de ligamiento, y en posiciones 0, 30 y 60 cM, respectivamente. Se simularon 2 tamaños de población (400 y 800 individuos), y dos porcentajes de varianza explicados por los QTL (5% y 15%) en cada carácter. Para cada tamaño de población y porcentaje de varianza se simularon 100 replicas de 3 casos diferentes:

Caso I: Los QTL están localizados en posiciones 10 y 50 para ambos caracteres, respectivamente.

Caso II: Los QTL están localizados en posiciones 20 y 40 para ambos caracteres.

Caso III: Los QTL están localizados en posición 30 en los dos caracteres (Pleiotropía)

Los datos fenotípicos se simularon a partir de una media, un efecto asociado al QTL y un efecto residual, que se muestreó de una distribución normal univariante.

Método I.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento de Knott y Haley (2000). En cada réplica se calculó el siguiente estadístico:

$$-\{\text{resdf} - \frac{1}{2}(2-1)\ln(|\text{RSS}_1|/|\text{RSS}_p|)$$

donde *resdf* son los grados de libertad residuales y RSS_I y RRS_p, las sumas de cuadrados residuales bajo los modelos de pleiotropía y ligamiento. Los umbrales de significación se calcularon mediante bootstrap.

Método II:

Se calculó el factor de Bayes según el procedimiento descrito por Varona et al. (2002, 2003), utilizando el siguiente estadístico:

$$BF = \frac{1}{\int_{\lambda_1=\lambda_2} p_1(\lambda_1,\lambda_2|\mathbf{y}_1,\mathbf{y}_2)\times L}$$

donde L es la longitud del cromosoma en cM y $\int_{\lambda_1=\lambda_2} p_1(\lambda_1,\lambda_2|\mathbf{y}_1,\mathbf{y}_2)$ es la integral a lo largo de la diagonal de una superficie bidimensional sobre la que se representa la distribución marginal posterior de la localización de los QTL bajo el modelo de ligamiento. Esta integral se calculó mediante un procedimiento MCMC, que utilizó muestreo de Gibbs y Metrópolis-Hastings.

Resultados y Discusión.

Los resultados correspondientes al caso I se presentan en la tabla I. Se observa que ambos procedimientos presentan resultados equivalentes en las situaciones donde existe mayor información (15% de la varianza y 800 individuos). Pero, por el contrario, en el caso menos informativo (5% de la varianza explicada por el QTL y 400 individuos) el método de Factor de Bayes (Método II) presenta una considerable mayor capacidad de discriminar entre ambos modelos.

Tabla I. Resultados (Caso I)

Carácter I		Carácter II		Tamaño	Método I		Método II
cM	Efecto	cM	Efecto	Población	%Ligam. (1%)	%Ligam. (5%)	%Ligam.
10	5%	50	5%	400	44	68	92
10	5%	50	5%	800	95	99	100
10	15%	50	15%	400	95	99	100
10	15%	50	15%	800	100	100	100

Los resultados correspondientes al caso II de simulación se presentan en la tabla II. En esta tabla se observa un patrón de comportamiento similar al presentado en la tabla I. En las situaciones donde la cantidad de información es menor (400 individuos y 5% de la variación explicada por los QTL) el método de mínimos cuadrados de Knott y Haley (2000) ofrece una capacidad menor de discriminar entre pleiotropía y ligamiento, mientras tanto, en las situaciones con mayor cantidad de información, los resultados de ambos procedimientos son equivalentes.

Tabla II. Resultados (Caso II).

Carácter I		Carácter II		Tamaño	Método I		Método II
cM	Efecto	cM	Efecto	Población	%Ligam. (1%)	%Ligam. (5%)	%Ligam.
20	5%	40	5%	400	6	31	51
20	5%	40	5%	800	38	68	66
20	15%	40	15%	400	40	59	68
20	15%	40	15%	800	83	96	93

Finalmente, los resultados correspondientes al tercer caso de simulación se presentan en la Tabla III. Como puede observarse el procedimiento de mínimos cuadrados (Método I) ofrece los resultados esperados de acuerdo al error de Tipo I asumido (1 o 5%), mientras que, cuando la cantidad de información es menor, el Método II presenta mayor porcentaje de réplicas a las que se atribuye el modelo ligamiento. Este porcentaje se reduce o desaparece cuando la información aumenta. Debe tenerse en cuenta que el método II (Factor de Bayes), no asume ningún modelo como hipótesis nula, por lo tanto la elección del modelo no depende de ningún umbral de significación, y ambos modelos compiten en igualdad de condiciones, por lo tanto, la capacidad de discriminación entre ambos modelos depende exclusivamente de la cantidad de información disponible.

Tabla III. Resultados (Caso III).

Carácter I		Carácter II		Tamaño	Método I		Método II
cM	Efecto	cM	Efecto	Población	%Ligam. (1%)	%Ligam. (5%)	%Ligam.
30	5%	30	5%	400	2	6	13
30	5%	30	5%	800	1	5	5
30	15%	30	15%	400	0	6	2
30	15%	30	15%	800	0	4	0

Bibliografía.

Archibald et al. (1995). Mamm. Genome. 6:157.
Barendse et al. (1997). Mamm. Genome. 8:798.
Kass y Raftery. (1995). J. Amer. Stat. Assoc. 90:773-795
Knott y Haley (2000). Genetics 136:1195.
Varona et al. (2002). Proc: WCGALP 2002.
Varona et al. (2003). Genetics (sometido).

ROBUSTEZ DE LOS MÉTODOS DE CONTROL DE LA CONSANGUINIDAD EN POBLACIONES DE CENSO REDUCIDO ANTE SITUACIONES PRÁCTICAS

Jesús Fernández[1], Miguel Ángel Toro[1], Armando Caballero[2]
[1]Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Madrid
[2]Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología. Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales objetivos en un programa de conservación, junto con el de mantener niveles altos de variabilidad genética, es el de minimizar el incremento de consanguinidad en la población. Esto es cierto también para programas de mejora, ya que el aumento de la consanguinidad normalmente implica efectos desfavorables en caracteres productivos o de eficacia biológica. El aumento de consanguinidad y la pérdida de variabilidad genética dependen del censo efectivo, por lo que las estrategias de manejo de poblaciones deben estar dirigidas a la maximización de este parámetro, o a minimizar la tasa de consanguinidad (inversamente relacionada con el anterior). Con igual número de machos y hembras la estrategia óptima sería igualar las contribuciones, lo que produciría un censo efectivo equivalente a dos veces el censo de una población ideal.

Habitualmente, debido a problemas económicos o de manejo, el número de machos es menor que el de hembras. En este contexto se han propuesto diversos métodos jerárquicos y regulares para controlar el aumento de la consanguinidad. En todos ellos cada macho se aparea con r hembras y contribuye con un hijo y r hijas. En el esquema de Gowe y col. (1959) cada hembra deja una hija y un hijo con probabilidad $1/r$. En el esquema propuesto por Wang (1997) la hembra que deja el hijo ya no contribuye con una hija mientras que otra de las hembras apareada con el mismo macho deja dos hijas. El último esquema propuesto (Sánchez-Rodríguez y col. 2003) sugiere usar las mismas contribuciones que el método de Wang pero haciendo que el número y sexo de los hijos que contribuye una hembra estén determinados por el tipo de contribución de la madre. De esta manera se controlan las contribuciones a lo largo de las generaciones, obteniéndose resultados superiores a los de los métodos de Gowe y Wang.

Por otra parte, diferentes autores han propuesto que la mejor manera de controlar el incremento en consanguinidad es determinar el conjunto de contribuciones que minimiza el parentesco global de los padres ponderado por dichas contribuciones (ver, por ejemplo, Fernández y Toro 1999). Este es un método flexible que no fija de antemano las contribuciones y que no asume un diseño de apareamientos regular. Por tanto, se espera que sea de mayor utilidad práctica que los métodos jerárquicos mencionados anteriormente en aquellas situaciones que se desvían de las condiciones ideales. En el presente trabajo se compara el método de minimización del parentesco global con los métodos jerárquicos cuando existen factores estocásticos que afectan a la fecundidad o viabilidad de los individuos, o cuando la población de partida no es homogénea en cuanto a los parentescos entre individuos. El objetivo es comprobar la aplicabilidad de cada método, comprobando la robustez de los mismos frente a desviaciones de la situación ideal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se simularon poblaciones compuestas por s = 2-8 machos y $d = s \times r$ hembras con r = 3-10. En cada caso, se corrieron 30 generaciones discretas manteniendo el censo y la relación entre sexos constante. Para ciertas simulaciones se asumió que los individuos en la población base (generación cero) eran no consanguíneos y no estaban emparentados entre sí, aunque en otros casos se comenzó a partir de poblaciones relacionadas diferencialmente, como se explica más adelante. Cada simulación se replicó 1.000 (diseños jerárquicos) o 200 veces (minimización del parentesco) y los valores de consanguinidad genealógica se promediaron para todas las generaciones.

Los métodos de manejo simulados fueron el propuesto por Wang (W), el propuesto por Sánchez-Rodríguez y col. (SBW) y la minimización del parentesco promedio (GC). En este último caso, para que las comparaciones fueran justas, se impuso un esquema en el que cada macho se apareaba con r hembras y luego se optimizaban las contribuciones de cada uno de los individuos. En los tres esquemas simulados el apareamiento fue al azar.

Para comprobar el comportamiento de cada método frente a desviaciones de las condiciones ideales se estudiaron dos situaciones. Por una parte se simularon casos en los que se producía un número aleatorio de fallos (muertes), muestreado de una Poisson con media λ = 1-2, en el esquema de selección decidido. Esto implicaba que se debía obtener un individuo "extra" de otra pareja que originalmente no debía producir más hijos. Otra situación práctica correspondía a la de poblaciones base con relaciones diferenciales y/o individuos consanguíneos. Esto se simuló con cinco generaciones con contribuciones y apareamientos no controlados previas a la implementación de cualquiera de los sistemas de manejo.

RESULTADOS

La Figura 1 muestra la evolución de la consanguinidad promedio desviada de la que se genera usando el método W en condiciones ideales. Las líneas continuas corresponden al método GC, las discontinuas al método SBW y la línea punteada al método W. Las líneas gruesas corresponden a la situación en la que no hay muertes aleatorias y las finas al caso en el que ocurre un promedio de dos muertes aleatorias por generación.

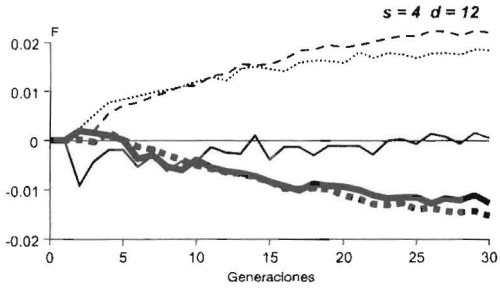


Figura 1. Evolución del coeficiente de consanguinidad cuando se producen una media de λ = 2 muertes aleatorias por generación. Significado de las líneas en el texto.

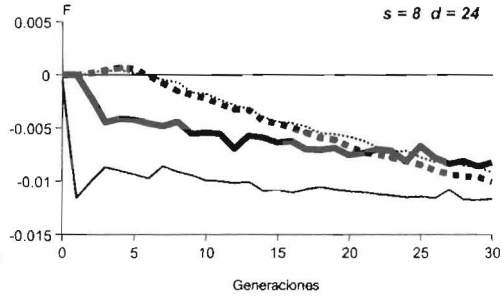


Figura 2. Evolución del coeficiente de consanguinidad cuando se parte de una población base con parentescos diferenciales. Significado de las líneas en el texto.

En condiciones ideales el método SBW comienza a ser mejor que el GC a partir de la generación 20 y es siempre mucho más eficiente que W. Pero cuando hay fallos

aleatorios, GC es muy superior en todo el periodo considerado y las diferencias entre W y SBW se reducen mucho. Un comportamiento similar se observa en la Figura 2, donde las líneas finas indican ahora el comportamiento cuando se permiten cinco generaciones previas sin manejo y, por tanto, los individuos de la población de partida están diferencialmente relacionados. Los valores de consanguinidad aparecen ahora desviados de los obtenidos bajo el método W pero para cada tipo de población base por separado (los valores de la población de partida no son comparables). Partiendo de relaciones no homogéneas la ventaja del método GC se extiende durante un periodo de tiempo mayor y la diferencia entre los métodos W y SBW se reduce ligeramente.

DISCUSIÓN

El aumento de la consanguinidad en poblaciones de censo reducido, tanto en programas de conservación como de mejora, es un parámetro a controlar por los efectos perjudiciales de la depresión consanguínea sobre caracteres productivos y de eficacia. El incremento de la consanguinidad es directamente proporcional al censo efectivo e inversamente proporcional a la tasa de consanguinidad. Así, maximizar (minimizar) estos parámetros debería garantizar los niveles de consanguinidad más bajos posibles a largo plazo. Pero hay que tener en cuenta dos factores. Por una parte es importante la consanguinidad que se produce a corto y medio plazo más que a largo plazo ya que, si ésta es elevada, la población puede ser inviable, imposibilitando el desarrollo del programa.

Por otra parte, las situaciones prácticas en las que se desarrollan los programas de conservación y mejora distan mucho de ser las condiciones teóricas para las que se optimizan los métodos. Por tanto, es necesario comprobar la robustez de éstos frente a desviaciones del óptimo. El problema con los diseños jerárquicos es que son demasiado rígidos y dependen mucho de sus suposiciones implícitas. En primer lugar, los métodos regulares no tienen en cuenta la posibilidad de que haya diferentes relaciones entre los individuos de la población de partida, asignando a todos ellos la misma probabilidad de contribuir hijos a la siguiente generación. Sin embargo, el método GC permite integrar esta información y presenta una mayor eficiencia en el control de la consanguinidad durante un intervalo de generaciones elevado. En segundo lugar, incluso pequeñas limitaciones en la fecundidad, prolificidad o viabilidad de la especie que consideremos hacen que los métodos jerárquicos pierdan mucha más eficiencia que el método GC. Este último permite, por su flexibilidad, reoptimizar buscando opciones alternativas. Por último, el número de individuos que se mantiene en un programa es dependiente de los recursos económicos. Por tanto, los censos pueden fluctuar y nos podemos encontrar con situaciones en las que el número de hembras no es múltiplo del de machos. En esta situación los métodos jerárquicos no son operacionales, en tanto que el método GC es capaz de proveer soluciones, ya que no asume de forma implícita un número total de hijos predefinido o un número concreto de hembras apareado con cada macho.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fernández, J., Toro, M. A. 1999. J. Anim. Breed. Genet. **116:** 447-466.
Gowe, R. S., A. Robertson, B. D. H. Latter, 1959. Poultry Sci. **38:** 462-471.
Sánchez-rodríguez, L., P. Bijma, J. A. Woolliams, 2003. Genetics (en prensa).
Wang, J., 1997. Heredity **79:** 591-599.

EFECTO DE LA PROPORCIÓN DE SEXOS EN LA DURACIÓN DE LA INMOVILIDAD MUSCULAR Y EL COCIENTE DE LEUCOCITOS. INTERACCIÓN CON LA RAZA

S.G. Dávila y J.L. Campo
Departamento de Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

Una proporción alta entre machos y hembras maximiza la fertilidad, y es la mejor opción en los programas de conservación para reducir las consecuencias negativas de los harenes sobre el tamaño de población efectivo. Sin embargo, una proporción demasiado alta puede estresar a ambos sexos. Por el contrario, una proporción baja permite ahorro de espacio y alimento, y además resulta en mayor uniformidad de la descendencia. Aunque un gallo puede fecundar hasta 20 gallinas sin problemas de fertilidad (Funk y Irwin, 1955: *Hatchery Operation and Incubation*, Wiley), la proporción normal en los programas de mejora es 1:15 en ponedoras y 1:11 en "broilers". Casanovas y Wilson (1999: Poult. Sci. 78, 119) indican que la proporción óptima en "broilers" es 1:10, porque combina buena fertilidad con poca interferencia y agresividad. Sin embargo, debido a problemas derivados de una excesiva agresividad en "broilers", las modernas compañías de mejora utilizan una proporción baja, 1:12, en animales jóvenes y la aumentan posteriormente hasta 1:6 (Brake y col., 1998: Poult. Sci. 77, 66). El objetivo de este estudio era analizar la relación entre la proporción de sexos, la duración de la inmovilidad muscular (indicador del estrés psicológico; Gallup, 1979: Anim. Behav. 27, 316-317), y el cociente entre heterófilos y linfocitos (indicador del estrés fisiológico; Gross y Siegel, 1983: Avian Dis. 27, 972-979). El estudio consideró dos tamaños de grupo diferentes (12 y 60 aves), ya que influye en el bienestar de gallos y gallinas, y diez razas distintas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron nueve razas españolas de gallinas (Andaluza Aperdizada, Azul y Franciscana, Castellana, Leonesa, Prat Leonada y Blanca, Vasca, y Villafranquina) y una población sintética (obtenida del cruce entre Castellana y Prat Leonada), todas ellas conservadas en la Granja Experimental de El Encín por el Departamento de Genética Animal del INIA, y diferenciadas por el tipo de puesta (huevo blanco, crema, o marrón) y por el nivel de agresividad.

En el Experimento 1 (grupos de 12 aves) se usaron 480 animales (120 gallos y 360 gallinas), divididos en cuatro grupos de 120 animales (12 de cada variedad) en los que la proporción de sexos desde las 30 semanas de edad era 1:11, 1:5, 1:3, o 1:1. En el Experimento 2 (grupos de 60 aves) se usaron otros 480 animales (140 gallos y 340 gallinas), divididos en dos grupos de 240 animales (60 de cada una de las razas Castellana, Prat Leonada, Vasca y sintética) en los que la proporción de sexos era 1:11 o 1:1. La inmovilidad muscular (Jones and Faure, 1981: Behav. Proc. 6, 47-55) y el cociente de leucocitos (Lucas y Jamroz, 1961: *Atlas of Avian Hematology*, USDA) se determinaron a las 40 semanas de edad, en dos días diferentes. Los datos se analizaron por un análisis de varianza de dos factores (proporción de sexos y raza) con interacción, con cambio de variable para ambas medidas (logaritmo para inmovilidad

muscular y raíz cuadrada para cociente de leucocitos). Las diferencias entre efectos se analizaron por el método de Student-Newman-Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se resumen los valores medios obtenidos para el efecto de la proporción de sexos en el Experimento 1. La proporción de sexos fue significativa para el cociente de leucocitos y sus dos componentes en las hembras. El cociente de leucocitos era significativamente mayor en la proporción 1:1 que en la 1:11 (heterofilia y linfopenia significativas). La duración de la inmovilidad muscular no difería significativamente entre las diferentes proporciones de sexos. La raza y la interacción eran significativas para las cuatro variables, aunque ésta era de tipo cuantitativo. El efecto de la proporción de sexos no fue significativo para ninguna variable en los machos, aunque había una tendencia consistente hacia un incremento en el cociente de leucocitos (con heterofilia y linfopenia), cuando la proporción de sexos aumentaba de 1:11 a 1:1. La raza fue significativa para el cociente de leucocitos y sus componentes, y la interacción fue significativa para el número de linfocitos.

En el Experimento 2, la proporción de sexos, la raza y su interacción fueron efectos significativos en las hembras, aunque la significación de la interacción se debía nuevamente a un cambio en cantidad y no en calidad. El valor medio para el cociente de leucocitos (Tabla 2) era mayor en la proporción 1:1 que en la 1:11 (heterofilia y linfopenia). Ningún efecto fue significativo para la duración de la inmovilidad muscular. En los machos, la raza influía significativamente en el cociente de leucocitos y sus componentes, mientras que la proporción de sexos y la interacción no eran significativas. De nuevo, el cociente de leucocitos era apreciablemente más alto en la proporción 1:1. La duración de la inmovilidad muscular fue significativamente más corta ($P < 0.05$) en la proporción 1:1.

El efecto de la proporción de sexos en el cociente de leucocitos de las hembras fue significativo tanto en grupos de 12 como de 60 aves. En ambos casos el cociente de leucocitos era mayor en la proporción 1:1 que en la 1:11, lo que indica que las gallinas estaban más estresadas cuando el número de gallos en el grupo era mayor. Por lo tanto, por razones de bienestar animal, no puede recomendarse la proporción 1:1. Debido a que la proporción 1:5 y la 1:3 no diferían significativamente de la 1:11, es posible utilizar en programas de conservación un gallo por cada tres gallinas sin problemas de bienestar. La proporción 1:11 es la más cercana a las usadas en la práctica comercial (Funk y Irwin, 1955; Casanovas y Wilson, 1999), mientras que la 1:5 se aproxima a la recomendada en "broilers" con niveles altos de agresividad (Brake y col., 1998). La proporción 1:3 sobrepasa ligeramente a la observada en *Gallus gallus*, cuya unidad social consiste en harenes de 1 gallo y 4 gallinas. Los gallos mostraban diferencias significativas en la duración de la inmovilidad muscular cuando se alojaban en grupos de 60 aves, disminuyendo en la proporción 1:1 en comparación con la 1:11. Esto indica que el estrés psicológico de los machos es menor (mayor agresividad) cuando hay 30 gallos y 30 gallinas por grupo. En resumen, el aumento de la proporción de sexos de 1:11 a 1:1 aumenta el estrés en las hembras, independientemente del tamaño de grupo, y aumenta la agresividad en los machos en grupos de muchos animales, concluyendo que no deben usarse proporciones altas en programas de conservación.

TABLA 1. Cociente entre heterófilos y linfocitos, número de heterófilos, número de linfocitos, y duración de la inmovilidad muscular (s) en gallinas y gallos alojados con cuatro proporciones distintas de sexos en grupos de 12 aves. Experimento 1 (n = 360 y n = 120, respectivamente)

Sexo	Proporción	Cociente heterófilos: linfocitos	Número heterófilos	Número linfocitos	Duración inmovilidad muscular
Hembras	1:11	0.35 [b]	20.94 [b]	66.34 [a]	257.47 [a]
	1:5	0.35 [b]	21.11 [b]	66.48 [a]	259.86 [a]
	1:3	0.45 [ab]	24.58 [a]	61.96 [b]	261.64 [a]
	1:1	0.53 [a]	26.75 [a]	60.19 [b]	231.13 [a]
Cuadrado medio residual		0.08	76.62	110.76	30424.91
Machos	1:11	0.39 [a]	20.80 [a]	62.40 [a]	324.40 [a]
	1:5	0.37 [a]	22.47 [a]	63.80 [a]	300.90 [a]
	1:3	0.47 [a]	25.11 [a]	58.06 [a]	289.95 [a]
	1:1	0.52 [a]	26.64 [a]	57.59 [a]	291.72 [a]
Cuadrado medio residual		0.05	64.34	85.62	42760.98

[a,b]Valores dentro del mismo sexo y columna con distinto superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$).

TABLA 2. Cociente entre heterófilos y linfocitos, número de heterófilos, número de linfocitos, y duración de la inmovilidad muscular (s) en gallinas y gallos alojados con cuatro proporciones distintas de sexos en grupos de 60 aves. Experimento 2 (n = 340 y n = 140, respectivamente)

Sexo	Proporción	Cociente heterófilos: linfocitos	Número heterófilos	Número linfocitos	Duración inmovilidad muscular
Hembras	1:11	0.37 [b]	21.60 [b]	65.93 [a]	227.18 [a]
	1:1	0.76 [a]	33.03 [a]	51.02 [b]	220.78 [a]
Cuadrado medio residual		0.15	87.77	130.94	29878.44
Machos	1:11	0.49 [a]	27.40 [a]	58.90 [a]	296.35 [a]
	1:1	0.62 [a]	29.63 [a]	54.25 [a]	203.39 [b]
Cuadrado medio residual		0.13	89.65	109.81	35079.76

[a,b]Valores dentro del mismo sexo y columna con distinto superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$).

RELACIÓN ENTRE BAÑO DE ARENA Y RESPUESTA AL ESTRÉS Y AL MIEDO EN RAZAS DE GALLINAS PONEDORAS DE HUEVO BLANCO, CREMA O MARRÓN

I. Muñoz y J.L. Campo
Departamento de Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

Para las gallinas ponedoras alojadas en jaulas comerciales se han sugerido modificaciones (Appleby y Hughes, 1990: World's Poult. Sci. J. 46, 38-40) que permiten satisfacer diversas necesidades de comportamiento como picotear, escarbar, bañarse en arena, anidar y aselarse, además de proporcionar mayor espacio al animal. Las modificaciones han llegado a ser obligatorias en la Comunidad Europea, y consisten en añadir arena, nidal y aseladero a las jaulas convencionales. Estas jaulas enriquecidas, junto con la explotación comercial sobre yacija (normal en aves reproductoras) de uno o varios pisos (aviarios), necesitan ser evaluadas desde el punto de vista productivo y del bienestar animal, buscando además las razas adaptadas a estos sistemas de explotación, ya que desde el punto de vista económico suponen un elevado aumento en el coste de producción (5%, 18% y 10%, respectivamente).

Hay pocos y contradictorios resultados sobre la relación entre estas necesidades de confort y el miedo de las aves, y ninguno ha estudiado su relación con el estrés. Appleby y col. (1993: Br. Poult. Sci. 34, 835-847) no encontraron asociación significativa en gallinas ponedoras, mientras que Vestergaard y col. (1993: Anim. Behav. 45, 1127-1140) en Red Jungle Fowl, encontraron asociación negativa entre baño de arena y miedo, aunque la diferencia no tenía significación estadística. Gerken y col. (1988: Poult. Sci. 67, 1363-1371) en codornices, no encontraron asociación significativa del baño de arena con la duración de la inmovilidad muscular, aunque había asociación significativa con el tiempo de emergencia de una jaula. Campo y Carnicer (1994: Europ. Poult. Sci. 58, 75-78) indicaron que la presencia del nidal disminuía significativamente la duración de la inmovilidad muscular (menos miedo), en ocho razas de gallinas ponedoras de huevo blanco, crema, o marrón.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos del baño de arena sobre la duración de la inmovilidad muscular (indicador del miedo; Gallup, 1979: Anim. Behav. 27, 316-317) y el cociente entre heterófilos y linfocitos (indicador del estrés; Gross y Siegel, 1983: Avian Dis. 27, 972-979) en gallinas. Además, se trató de determinar si existe interacción con el genotipo del animal, utilizando seis razas diferentes de huevo blanco, crema o marrón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron seis razas españolas de gallinas ponedoras, dos de huevo blanco (Andaluza y Castellana), dos de huevo crema (Leonesa y Prat), y dos de huevo marrón (Vasca y Villafranquina), todas ellas conservadas en la Granja Experimental de El Encín por el Departamento de Genética Animal del INIA. Se utilizaron 144 gallinas de 72 semanas de edad, divididas en dos grupos de 72 aves (12 de cada raza) en los que se estaba realizando el baño de arena (la captura del animal se hacía 20 min después de

iniciarse esta actividad) o no (el animal no había iniciado esta actividad durante los 20 min previos a la captura), respectivamente. La inmovilidad muscular (Jones and Faure, 1981: Behav. Proc. 6, 47-55) y el cociente entre heterófilos y linfocitos (Lucas y Jamroz, 1961: *Atlas of Avian Hematology*, USDA) se determinaron en dos días diferentes. Los datos se analizaron por un análisis de varianza de dos factores (baño de arena y raza) con interacción, con cambio de variable para ambas medidas (logaritmo para inmovilidad muscular y raíz cuadrada para cociente de leucocitos). Las diferencias entre razas se analizaron por el método de Student-Newman-Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios indicando el efecto del baño de arena y de la raza se resumen en la Tabla 1. El cociente entre heterófilos y linfocitos era significativamente menor en el grupo de gallinas que realizaban el baño de arena. La interacción no era significativa, siendo el cociente menor en todas las razas. Las razas diferían significativamente entre sí, presentando la Prat el valor máximo y la Castellana el valor mínimo y siendo ésta la única diferencia significativa. En las gallinas con baño de arena la heteropenia observada era significativa. La raza con mayor valor para el porcentaje de heterófilos (Villafranquina) difería significativamente de la raza con menor valor (Castellana). El baño de arena no tenía efectos significativos sobre el porcentaje de linfocitos. El efecto de la raza era significativo, presentando la Leonesa mayor valor que la Vasca. Los valores medios para el cociente de leucocitos indicados en la tabla difieren de los calculados a partir de los valores medios indicados en la tabla para heterófilos y linfocitos (0.46 y 0.53 para baño de arena presente y ausente, respectivamente), debido al efecto de la varianza del denominador (s^2_y) y de la covarianza entre numerador y denominador (s_{xy}) en el valor del cociente: $x/y = m_x/m_y + 2m_x s^2_y/m_y^3 - s_{xy}/m_y^2$.

La duración de la inmovilidad muscular no difería significativamente en las gallinas con o sin baño de arena. El número de intentos necesarios para inducir la inmovilidad muscular era similar en ambos grupos, con 17% de las gallinas requiriendo dos inducciones y 2% requiriendo tres inducciones. La interacción no era significativa, y la raza tenía efectos significativos tanto para la duración como para el número de intentos. La Leonesa tenía duración más larga que la Vasca, mientras que el número de intentos difería significativamente entre la Vasca y la Villafranquina por un lado, y la Andaluza y la Castellana por otro. En las dos primeras, el 34% de las gallinas necesitaba tres intentos para conseguir la inducción.

Los resultados indican que el baño de arena conlleva un menor nivel de estrés. La interacción no fue significativa, indicando consistentes efectos del baño de arena en todas las razas. El baño de arena no afecta a la duración de la inmovilidad muscular, aunque en una de las razas la diferencia entre el grupo con baño de arena y el de sin baño de arena era significativa (473 y 147 s, respectivamente). Appleby y col. (1993) en ponedoras comerciales de huevo marrón, no encontraron diferencias entre jaulas enriquecidas y tradicionales para la duración de la inmovilidad muscular. Vestergaard y col. (1993) en Red Jungle Fowl, encontraron una amplia diferencia entre suelo con y sin yacija (250 y 450 s, respectivamente, aunque el tamaño del experimento era pequeño y la diferencia no era significativa. Gerken et al (1988) en codornices no encontraron

diferencia significativa para inmovilidad muscular, aunque los dos grupos diferían en tiempo de emergencia de una jaula, sugiriendo asociación entre el miedo y el baño de arena. Por tanto, el baño de arena debe ser considerado como una necesidad básica de confort de las aves, tanto en las ponedoras de huevo blanco como en las de huevo marrón o crema, y debe proporcionarse tanto en explotaciones en jaulas como sobre yacija. En combinación con los resultados indicados por Campo y Carnicer (1994) para la presencia de nidales, la obligatoriedad de las jaulas enriquecidas, al menos para el baño de arena y el nidal de puesta, parece estar justificada desde el punto de vista del bienestar animal.

TABLA 1. Cociente entre heterófilos y linfocitos, porcentaje de heterófilos, porcentaje de linfocitos, duración de la inmovilidad muscular (s), y número de intentos para inducirla, en gallinas de seis razas diferentes realizando el baño de arena o no

Efecto	Cociente heterófilos: linfocitos	Porcentaje heterófilos	Porcentaje linfocitos	Duración inmovilidad muscular	Número intentos
Baño de arena					
Presente	0.51 ^{b}	26 ^{b}	57 ^{a}	246 ^{a}	1.21 ^{a}
Ausente	0.65 ^{a}	29 ^{a}	55 ^{a}	279 ^{a}	1.20 ^{a}
Error típico media (n = 72)	0.05	1	1	22	0.05
Raza					
Castellana	0.41 ^{b}	22 ^{b}	58 ^{ab}	287 ^{ab}	1.04 ^{b}
Andaluza	0.57 ^{ab}	29 ^{ab}	55 ^{ab}	284 ^{ab}	1.04 ^{b}
Prat	0.74 ^{a}	29 ^{ab}	56 ^{ab}	246 ^{ab}	1.13 ^{ab}
Leonesa	0.51 ^{ab}	25 ^{ab}	62 ^{a}	310 ^{a}	1.30 ^{ab}
Vasca	0.62 ^{ab}	30 ^{ab}	51 ^{b}	167 ^{b}	1.37 ^{a}
Villafranquina	0.65 ^{ab}	31 ^{a}	55 ^{ab}	262 ^{ab}	1.35 ^{a}
Error típico media (n = 24)	0.08	2	2	35	0.08

^{a,b}Valores en el mismo efecto y columna con distinto superíndice difieren significativamente ($P < 0.05$).

EL CARÁCTER RENTABILIDAD EN VACUNO DE LECHE

M. A. Pérez-Cabal y R. Alenda
Departamento de Producción Animal – E.T.S.I. Agrónomos (UPM)

INTRODUCCIÓN

Cuando se organizó el control lechero en algunas Comunidades Autónomas se tuvo en cuenta la necesidad de utilizarlo como vía de tecnificación de las ganaderías de vacuno de leche, mediante la recogida de una información coordinada de todo lo referente a los costes e ingresos de las explotaciones. Esto facilita al ganadero la mejora de la rentabilidad de su explotación. Así, actualmente es fácil tener información sobre factores que intervienen directamente en la determinación de la rentabilidad de un animal, como el nivel productivo, los problemas sanitarios, la alimentación y el control reproductivo de cada vaca.

Dada la heredabilidad moderada obtenida en trabajos anteriores (Pérez-Cabal, 2002; Pérez-Cabal y Alenda, 2002), el carácter rentabilidad es susceptible de ser mejorado por selección. El problema reside, al igual que ocurre con la longevidad, en que la rentabilidad es un carácter que depende del tiempo y que no se conoce realmente hasta que finaliza la vida productiva de la vaca. Por eso, un objetivo de este trabajo es determinar cómo se calcula la rentabilidad de un animal teniendo en cuenta que su vida productiva puede estar en curso y que es interesante conocerla a edades tempranas para poder utilizarla como criterio de selección.

Otro objetivo de este estudio es definir la obtención del carácter rentabilidad por año de vida productiva tanto para las vacas que ya han sido sacrificadas como para las que todavía están en producción y conocer la relación genética entre la rentabilidad y los caracteres productivos que afectan sobre ella.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha estimado la rentabilidad anual (R) de 42.401 vacas pertenecientes a rebaños del País Vasco y Navarra como diferencia entre los ingresos y los costes generados a lo largo de toda la vida productiva utilizando la información procedente del control lechero histórico y de la calificación morfológica de estas dos comunidades autónomas. Como datos económicos se han utilizado los medios de 239 explotaciones del País Vasco correspondientes al año 1995 (Pérez-Cabal, 2002), pertenecientes al programa de gestión desarrollado paralelamente al control lechero. En la Tabla 1 se muestran los parámetros que inciden en los ingresos y los costes generados por una vaca. Con el fin de poder obtener la rentabilidad de los animales que aún están en lactación, para las vacas de esta población que tuvieron al menos tres lactaciones (30.396 animales) se estimó además, su rentabilidad por año de vida productiva utilizando la información correspondiente a la primera (R1), dos primeras (R2) y tres primeras lactaciones (R3). En estos casos se supuso que cada vaca era eliminada al finalizar la primera, segunda o tercera lactación, respectivamente, utilizando el valor del desecho en el cálculo de los ingresos.

Las correlaciones genéticas entre la rentabilidad y los caracteres productivos kg. de leche, kg. de grasa, kg. de proteína, peso corporal, intervalo entre partos (IPP) y porcentaje de días en lactación, se obtuvieron realizando análisis multicarácter mediante REML con el VCE (Groeneveld y García Cortés, 1998). Los modelos utilizados fueron:

$$\text{Rentabilidad} = \mu + RAn + animal + e$$

$$\text{Produccion} = \mu + RAn + Mp + EPP + animal + e$$

$$\text{Peso} = \mu + RVC + LAE + EL + animal + e$$

$$\text{IPP} = \mu + RAn + Mp + LAE + animal + e$$

donde: *RAn* corresponde al efecto Rebaño - Año de nacimiento, *Mp* es el efecto Mes de Parto, *EPP* es el efecto Edad al Primer Parto, *RVC* es el efecto Rebaño-Visita-Calificador, *LAE* es el efecto LActación-Edad al parto, *EL* es el efecto Estado de Lactación y *e* es el error asociado a cada observación.

Tabla 1. Información que afecta a la rentabilidad de un animal, cómo se recoge y su relación con los ingresos y costes.

Información	Procedencia	Influencia sobre la rentabilidad	Ingresos	Costes
Kg. Leche	Control lechero		Venta de leche	Alimentación
% grasa	Control lechero		Venta de leche	-
% proteína	Control lechero		Venta de leche	-
RCS	Control lechero	Mamitis	Venta de leche	Salud de ubre
Nº lactaciones	Control lechero	Nº terneros	Venta de terneros	-
Edad primer parto	Control lechero	Recría	-	Alimentación
Tamaño	Calificación morfológica	Peso corporal	Desecho	Alimentación
Días en lactación	Control lechero	Necesidades de producción	-	Alimentación
Días secos	Control lechero	Necesidades de gestación	-	Alimentación
Nº Inseminaciones	Reproductivo	Fertilidad		Semen
Éxito IA	Reproductivo	Fertilidad		Semen
Tasa de no retorno	Reproductivo	Fertilidad		Semen
Mano de obra	Gestión		-	C. Explotación
Veterinario	Gestión		-	C. Explotación
Medicinas	Gestión		-	C. Explotación
Infraestructura	Gestión		-	C. Explotación

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los caracteres más correlacionados con la rentabilidad fueron los de producción, como se muestra en la Tabla 2, estando las heredabilidades obtenidas dentro del rango de otros trabajos de la bibliografía. El porcentaje de días que la vaca está en lactación respecto al total de la vida productiva obtuvo una heredabilidad baja (0.04) pero una correlación genética de 0.35 con la rentabilidad. La heredabilidad del peso adulto es moderada (0.32), similar a los valores obtenidos por Lin et al. (1985) en la población de Canadá e intermedio para las presentadas en sistemas de producción basadas en pastos, que resulta ser más variable (0.24 – 0.40) según trabajos presentados por Spelman y Garrick 1997) y Visscher et al. (1994), respectivamente. La correlación con la rentabilidad ha resultado ser positiva posiblemente debido a la alta correlación entre el peso y los caracteres de producción (Pérez-Cabal, 2002). Esto puede significar que un animal de mucho peso, a pesar de tener más necesidades energéticas, puede compensar los costes de alimentación con una mayor producción. En cuanto al intervalo entre partos se han obtenido los resultados esperados. Es un carácter de baja heredabilidad dada la gran influencia de la voluntad del ganadero para retrasar el momento de la inseminación. La correlación obtenida con la rentabilidad es prácticamente nula, no siendo el carácter más adecuado para medir la fertilidad de una vaca.

La heredabilidad, correlaciones genéticas y fenotípicas entre la rentabilidad medida en diferentes momentos se muestra en la Tabla 3. Las diferencias obtenidas entre las heredabilidades y correlaciones estimadas para la rentabilidad calculada considerando todas las lactaciones (R) y considerando hasta tres lactaciones (R1, R2 y R3) se deben probablemente al número de datos utilizado en cada carácter. Las correlaciones genéticas fueron superiores a 0.85 entre todos los caracteres. El valor más bajo se obtuvo entre R y R1, probablemente debido a la falta de información sobre el intervalo entre partos en el cálculo de la rentabilidad a partir de la primera lactación. Dadas las correlaciones genéticas obtenidas (> 0.97) entre R2 y R3 y R3 y R, podría deducirse que la rentabilidad calculada usando la información de las dos primeras lactaciones se asemeja a la obtenida al final de

la vida productiva, pudiendo ser utilizada como dato válido en una valoración genética y como criterio de selección.

Tabla 2. Heredabilidad (h^2) de los caracteres de producción, peso corporal, intervalo entre partos (IPP) y porcentaje de días en lactación (DLAC) y correlaciones genéticas (ρ^2_g) con la rentabilidad.

	h^2	ρ^2_g
Leche (kg)	0.34	0.79
Grasa (kg)	0.27	0.85
Proteína (kg)	0.29	0.83
Peso (kg)	0.32	0.25
IPP (d)	0.07	-0.06
DLAC (%)	0.04	0.35

Tabla 3. Heredabilidad (diagonal) correlaciones genéticas (encima de la diagonal) y fenotípicas (debajo de la diagonal) entre la rentabilidad calculada en distintos periodos.

	R1	R2	R3	R
R1	*0.34*	0.96	0.93	0.86
R2	0.91	*0.36*	0.99	0.97
R3	0.85	0.96	*0.33*	0.99
R	0.77	0.88	0.93	*0.25*

En la actualidad, la estimación de la rentabilidad de cada animal se basa fundamentalmente en el nivel de producción. Recientemente se están recogiendo datos relacionados con los costes de la salud de la ubre, como la reducción en el precio de la leche, el incremento en los costes de veterinario y tratamientos, aumento del tiempo de ordeño y mayor desecho debido a la mamitis, así como la información referente a la fertilidad de la hembra (González Recio et al., 2003), como número de inseminaciones por concepción, tasas de no retorno, intervalo entre el parto y la primera inseminación y el porcentaje de éxito de la inseminación. La inclusión de estos factores en la obtención de la rentabilidad se aproximará más a la realidad y algunos resultados podrían variar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

González Recio, Ó., Pérez-Cabal, M.A., Alenda, R. 2003. Parámetros genéticos de los caracteres de fertilidad en el vacuno de leche. X Jornadas de Producción Animal.

Groeneveld, E. and García Cortés, L.A. 1998. VCE 4.0, a (co)variance component package for frequentists and Bayesians. Proc. 6th. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol. 27:455-456.

Lin, C.Y., McAllister, A.J., and Lee, A.J. 1985. Multitrait estimation of relationships of first-lactation yields to body weight changes in Holstein heifers. J. Dairy Sci. 68: 2954-2963.

Pérez-Cabal, M. A. 2002. Predicción de la rentabilidad en el ganado vacuno lechero en España. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.

Pérez-Cabal, M. A., Alenda, R. 2002. Genetic relationships between lifetime profit and type traits in Spanish Holstein cows. J. Dairy Sci. 85: 3480-3491.

Spelman, R.J., and Garrick, D.J. 1997. Effects of live weight and differing economic values on responses to selection for milk fat, protein, volume and live weight. J. Dairy Sci. 80: 2557-2562.

Visscher, P.M., Bowman, P.J., and Goddard, M.E. 1994. Breeding objectives for pasture based dairy production systems. Livest. Prod. Sci. 40: 123- 137.

EVOLUCIÓN DEL IGF-1 PLASMÁTICO EN DOS TIPOS GENÉTICOS DE CERDOS Y AVES.

Tor, M.[1]; Robles, O. [1]; Villalba, D. [1]; Cubiló, D. [1]; Molina, E. [1]; Noguera, J.L. [2]; Francesch, A. [3]; Estany, J. [1]

[1] Departament de Producció Animal. UdL. Rovira Roure, 191. 25198 Lleida.
[2] Àrea de Producció Animal. Centre UdL- IRTA. Rovira Roure, 191. 25198 Lleida.
[3] Unitat Genètica Avícola. Centre Mas Bové. IRTA Apartat 415. 43200 Reus.

INTRODUCCIÓN

La inclusión del contenido de grasa intramuscular en el objetivo de un programa de selección presenta dos limitaciones. En primer lugar, disponer de estimadores fiables de su valor en vivo y en segundo lugar su correlación positiva con el contenido de grasa subcutánea. La determinación de la relación de determinadas variables fisiológicas con el crecimiento y la deposición de la grasa, podría aportar información para comprender el desarrollo diferencial de los distintos depósitos adiposos y además ser útil como criterio indirecto de selección. En ese sentido existen algunos indicadores candidato como son el enzima málico, que ha sido relacionado con la grasa intramuscular (Mourot et al. 1999), la leptina, hormona que se ha relacionado con la distribución regional de la grasa (Xie et al. 1999) y con el espesor graso dorsal (Estany et al 2001), o el factor de crecimiento IGF-1, que ha sido relacionado en la especie porcina, con el nivel de engrasamiento (Bunter et al. 2002). En el presente trabajo se presenta un análisis preliminar de la evolución plasmática del IGF-1 en dos líneas de cerdos y en dos líneas de aves y su relación con el crecimiento y el contenido graso.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado machos de dos líneas de cerdos Landrace, pertenecientes a dos esquemas de selección hiperprolífica distintos (A y B), de la granja de selección Nova Genètica. El peso vivo al sacrificio para la línea A fue de 98,67 ± 1,78 kg y para la B de 98,29 ± 2,25 kg, sin que se observen diferencias en el contenido de grasa intramuscular en músculo glúteo medio (GIM). Los gallos son de dos líneas de la raza Penedesenca Negra, procedentes del Programa de Conservación Genética del IRTA. Una de ellas fue fundada por cruzamiento de la población base y seleccionada posteriormente por crecimiento (PN) y la otra fue seleccionada en población cerrada por puesta (MN). El peso adulto y la edad al punto de inflexión, estimados mediante el ajuste de la función de Gompertz, fueron de 4286,8 ± 91,3 g y 49 ± 0,5 días para la línea PN y de 2693,6 ± 78,2 g y 60 ± 0,4 días para la línea MN. No se observan diferencias entre líneas en el contenido en materia grasa del contramuslo en aves (MG). El periodo de crecimiento estudiado llega hasta los 170 días en cerdos y hasta los 140 en aves, realizándose registros de peso y análisis del IGF-1 plasmático a los 28 y 160 días de vida en los cerdos y a los 44, 72, 107 y 140 días en las aves. Los análisis de IGF-1 de la especie porcina se realizaron mediante kit ELISA para humana de Immunodiagnostic Systems Ltd, Boldon, UK, mientras que en aves se utilizó el multispecies IGF-1 ELISA kit de Immunological & Biochemical Testsystems GmbH, Reutlingen, Germany, previa extracción de las IGFBP (Browsher et al. 1991). En las aves el ensayo se estandarizó mediante el uso de IGF-1 de pollo recombinante (HU020; Gro Pep Pty Ltd. North Adelaide, Australia). La repetibilidad de los análisis fue de 0,99 para los cerdos y 0,93 para las aves. La determinación del espesor graso dorsal sobre la canal (EGD) se realizó mediante el sistema Fat-O-Meater, SFK, Denmark. El contenido en MG y GIM se analizó por el método Soxhlet (AOAC, 1990). El análisis estadístico se efectuó con el

procedimiento MIXED del programa SAS, (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Se consideró un modelo con efecto fijo línea y con el efecto aleatorio animal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración plasmática de IGF-1 presenta diferencias significativas entre líneas, tanto de cerdos como de aves (Figura 1). En porcino, a los 28 días de vida la concentración fue superior en la línea B, mientras que a los 160 días de vida esta relación se invierte. Ambas líneas presentan una correlación positiva (Tabla 1) entre el contenido plasmático de IGF-1 a los 160 días de vida y el peso vivo al sacrificio. Además, en la línea B, que en diversos experimentos anteriores había demostrado un mayor crecimiento en magro, hay una correlación positiva entre el IGF-1 medido a los 28 y 160 días con el peso a los 28 días de vida. Por otro lado se ha detectado una correlación positiva ($p<0,08$) entre el EGD de la canal y la concentración sanguínea de IGF-1 a los 160 días de edad. Estos resultados coinciden con los de Luxford et al. (1998), quienes encontraron una correlación genética de 0,29 y fenotípica de 0,18 entre ambas variables en cerdos de raza Landrace y Large White a las 24 semanas de edad.

En aves, a partir de la segunda extracción, la línea de menor crecimiento MN presentó niveles séricos de IGF-1 significativamente superiores a la línea PN. En cambio en la primera extracción, a los 44 días de vida, no existen diferencias entre ambas. Este resultado, aparentemente contradictorio, podría explicarse por el hecho de que en aves la relación positiva entre el IGF-1 y el peso vivo se manifiesta sobre todo en la primera etapa de la vida, concretamente en broilers antes de las 6 semanas (Becavin et al. 2001). Aun teniendo en cuenta que las líneas estudiadas presentan un crecimiento más lento que él del broiler (Villalba et al 2001), parece que en nuestro estudio el momento de máxima relación entre el IGF-1 y el peso tuviera lugar antes de los 44 días de vida, periodo del cual no se disponen registros de IGF-1 plasmático. Podría además ser esta la causa de que en las aves no se haya encontrado ninguna correlación significativa dentro de línea, del nivel plasmático de IGF-1 con el peso vivo y la MG del contramuslo (Tabla 2).

Los resultados obtenidos indican que en la especie porcina, los niveles plasmáticos de IGF-1 presentan una relación positiva aunque baja con el crecimiento y el contenido de tejido adiposo. En las aves esta relación no aparece tan clara, aunque se observan diferencias entre líneas y existen indicios que aconsejan la determinación del IGF-1 a una edad más precoz. Para la utilización de los niveles plasmáticos de IGF-1 como un indicador en programas de selección, será necesario acotar dentro de línea el momento óptimo de comparación e incluir información de otros indicadores complementarios. Además adquiere especial importancia disponer de metodologías de medida fiables y contrastadas. Las interacciones que se establecen entre los péptidos reguladores y sus proteínas portadoras e incluso con otras proteínas séricas, pueden interferir en las determinaciones basadas en inmunoensayos y generar confusión, como en su momento ocurrió con la determinación del IGF-1 y sucede en la actualidad con la leptina (Hill, 2003). En ese sentido puede resultar especialmente útil la aplicación a este campo de técnicas analíticas como la cromatografía de líquidos y la espectrometría de masas, para el desarrollo de metodologías que permitan el análisis sistemático, fiable y a amplia escala del conjunto de proteínas expresadas por el genoma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis. Washington, D.C. Association of Official Analytical and Chemists.

Beccavin C., Chevalier B., Cogburn L.A., Simon J., Duclos M.J. 2001. Journal of Endocrinology,168: 297-306.

Bowsher R.R., Lee W., Apathy J.M., O'Brien P.J., Ferguson A.L., Henry D.P. 1991. Endocrinology, 128: 805-814.
Bunter K. L., Hermesh S., Luxford B.G., Lahti K., Sutcliffe E. 2002. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, Comunication nº 03-09.
Estany J., Tor M., Amills M., Villalba D., Jiménez N., Noguera J.L., Sanchez A. 2002. 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production,. Montpellier, France, Comunication nº 03-27.
Hill R.A. 2003. Animal Science, 76: 1-2.
Luxford B. G., Bunter K. L., Owens P. C., Campbell R. G. 1998. Journal of Animal Science, 76: 53.
Mourot J.M., Kouba M., Salvatori G. 1999. INRA Productions Animales 12: 311-318.
Xie C., Wegner J., Brockman G. A., Kazala C., Weselake,R. J., Ender K. 1999. Arch. Tierz Dummerstorf, 191-199.
Villalba D., Cubiló D., Tor M., Solanes X., Molina E., Francesch A., Estany, J. 2001. *ITEA, 22:* 93-95.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT, Proyecto AGF99-1221.

*Figura 1.Evolución de la concentración plasmática de IGF-1 en cerdos y aves, (*p<0,05; **p<0,01).*

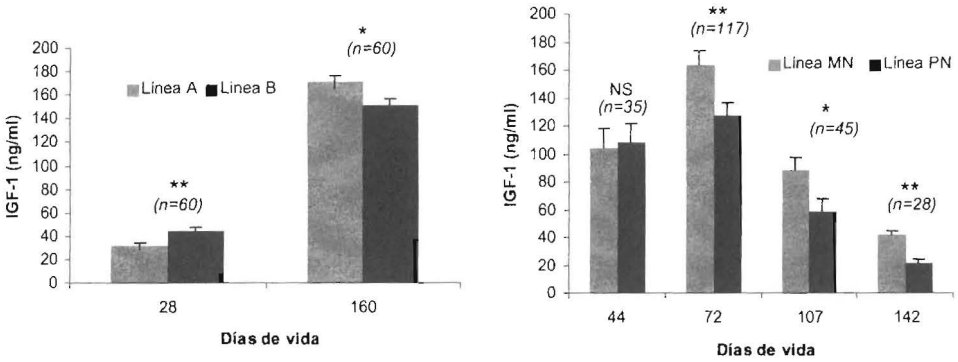


Tabla 1. Correlaciones fenotípicas de la concentración plasmática de IGF-1, peso vivo y el contenido graso en cerdos. (p<0,1; **p<0,05).*

	IGF-1			
	28 días		160 días	
	A	B	A	B
EGD (170 días)	0,27	0,11	0,37*	0,28*
GIM (170 días)	0,16	-0,003	0,18	0,22
Peso vivo (28 días)	0,47**	-0,08	0,58**	0,14
Peso vivo (170 días)	0,04	-0,07	0,53**	0,36**

*Tabla 2. Correlaciones fenotípicas de la concentración plasmática de IGF-1, peso vivo y el contenido graso en aves, (*p<0,1).*

	IGF-1							
	44 días		72 días		107 días		140 días	
	MN	PN	MN	PN	MN	PN	MN	PN
% MG contramuslo	-0,43	0,27	0,10	-0,006	-0,24	0,01	-0,32	0,10
Peso vivo 45 días	-0,09	0,05	-0,09)	-0,07	-0,37*	0,04	-0,19	-0,19
Peso vivo 72 días	-0,04	-0,20	-0,04	0,10	-0,06	0,05	-0,25	0,006
Peso vivo 108 días	-0,05	-0,09	-0,05	-0,22	-0,04	-0,05	-0,27	-0,08
Peso vivo 140 días	-0,50	0,01	-0,01	0,10	-0,23	-0,13	-0,34	-0,57*

Nutrición-Alimentación Animal

ESTRATEGIAS DE ALIMENTACIÓN BASADAS EN LA LIBRE ELECCIÓN DE ALIMENTOS EN EL CEBO DE CORDEROS DE RAZA ASSAF

A.B. Rodríguez, R. Landa, F.J. Giráldez, P. Frutos, A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental de León (CSIC). Apdo 788. 24080 León

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han puesto de manifiesto que en el cebo intensivo de corderos puede suprimirse la paja de la ración y emplear el cereal entero sin que resulte afectada negativamente la eficiencia del proceso productivo (Castrillo et al., 1989; Landa et al., 2001). Asimismo, algunos trabajos sugieren que los rumiantes, entre ellos los corderos, pueden seleccionar los alimentos en las proporciones adecuadas para cubrir sus necesidades de forma relativamente eficiente (Kyriazakis and Oldham, 1993; Villalba y Provenza, 1999). Sin embargo, animales recién destetados y en periodos relativamente cortos de tiempo, como es el caso del cebo intensivo de corderos, podrían ser incapaces de realizar el aprendizaje necesario para seleccionar adecuadamente los alimentos y lograr una ingestión equilibrada de nutrientes. Obviamente, esta circunstancia podría disminuir el rendimiento productivo y la calidad de la canal, pero, también, incluso sin influir en el valor medio de los parámetros productivos, podría incrementar la variabilidad individual, y por tanto, la heterogeneidad del producto final obtenido.

Teniendo en consideración lo expuesto, se planteó este trabajo para estudiar la respuesta de los corderos de cebo intensivo alimentados con un sistema de libre elección.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 corderos de raza Assaf (12 machos y 12 hembras) distribuidos en dos tratamientos experimentales: control (C) y libre elección (LE). Los corderos recibieron, diariamente y durante todo el periodo de cebo, los alimentos experimentales, que, para el grupo control fueron: pienso comercial de cebo y paja de cebada y para el grupo de libre elección: cebada en grano, suplemento proteico y corrector vitamínico-mineral. Todos los alimentos fueron administrados en comederos independientes y a libre disposición. El porcentaje de materias primas del pienso comercial y del suplemento proteico, así como su composición química se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Materias primas (g/kg) y composición química (g/kg) del Pienso Comercial (PC) y del Suplemento Proteico (SP).

	Cebada	Trigo	Soja	Corrector	Bicarbonato	MS	PB	FND	Cenizas
PC	700	48	220	27	5	891	150	131	91
SP	-	175	820	5	-	866	319	107	105

Los animales se alojaron en jaulas individuales y dispusieron de agua a voluntad. Diariamente se recogieron y pesaron los restos de cada alimento, tomando una muestra para determinar su contenido de materia seca. Para estimar la ganancia diaria de peso, mediante regresión lineal, los corderos fueron pesados tres veces por semana hasta que alcanzaron 25 kg, peso al que fueron sacrificados. Después del sacrificio, se tomó el peso de la canal caliente y se realizó la valoración de la conformación (Colomer-Rocher et al., 1988). Transcurridas 24 horas de oreo en cámara frigorífica a 4 ºC, se tomó el peso de la canal fría y se realizaron las medidas morfológicas: anchura de la grupa (G), longitud externa de la canal (K), longitud interna de la canal (L) y longitud interna de la pierna (F). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede apreciarse en la Tabla 2, los corderos del sistema de libre elección presentaron una mayor ingestión de materia seca. Esta mayor ingestión de alimento se reflejó también en una mayor velocidad de crecimiento, que en el caso de las hembras supuso un incremento de aproximadamente un 17% y en el caso de los machos de un 21%, respecto a los animales criados con el sistema de alimentación convencional.

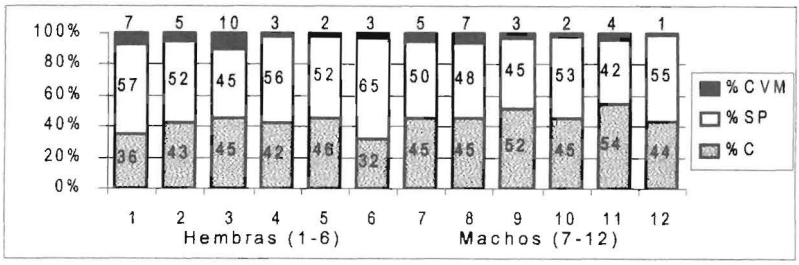
Tabla 2. Ingestión de materia seca (IMS), ganancia diaria de peso (GDP) e índice de conversión (IC).

	Control		Libre Elección		RSD	Nivel de significación		
	H	M	H	M		D	S	D * S
IMS (g/d)	771	759	932	884	61,8	***	ns	ns
GDP (g/d)	233	273	273	330	48,2	**	*	ns
IC(gMS/gdp)	3,3	2,8	3,4	2,8	0,39	ns	**	ns

ns: p > 0,05; *: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p<0,001. D: efecto debido a la dieta; S: efecto debido al sexo.

A pesar de la mayor ganancia diaria de peso, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el índice de conversión entre sistemas de alimentación, lo que sugiere que la eficiencia con que se utilizó el alimento fue ligeramente menor en el caso de los animales del sistema de libre elección. En este sentido, cabe mencionar que el contenido de proteína bruta, en la dieta seleccionada por los corderos criados con el sistema de libre elección, fue claramente superior a la que presentaba el pienso comercial (25% vs 16%), lo cual fue debido a que la proporción de núcleo proteico, representó un porcentaje importante de la dieta seleccionada. (Figura 1)

Figura 1. Porcentaje de cebada (C), suplemento proteico (SP) y corrector vitamínico-mineral (CVM) en la dieta seleccionada por cada cordero en el sistema de libre elección.



Es conocido que existe una relación positiva entre ingestión, ganancia diaria de peso y contenido de proteína en el pienso. No obstante, un exceso de proteína puede influir negativamente en el ritmo de crecimiento ya que los aminoácidos absorbidos se destinarían, en parte, a la deposición de grasa. En el presente estudio, considerando las recomendaciones existentes sobre necesidades proteicas de corderos, se podría afirmar que el consumo de proteína en los corderos del sistema de libre elección estaría por encima de sus necesidades. Este consumo excesivo de proteína, unido a la variabilidad observada entre animales y días en la dieta de libre elección, sugiere que los corderos son incapaces de seleccionar adecuadamente el alimento para cubrir de forma eficiente sus necesidades. No obstante, no puede descartarse que el elevado consumo de proteína obedezca a un comportamiento orientado a reducir los efectos negativos asociados con el elevado

consumo de cereales. Y a este respecto hay que indicar que al aumentar el consumo de núcleo proteico se reduce el consumo de almidón. Además, el aporte de proteína degradable en el rumen puede contribuir, a través de la producción de NH_3, a neutralizar la disminución del pH del medio ruminal.

El empleo de sistemas de libre elección en tanto en cuanto pueden determinar diferencias entre animales, así como entre días, en la dieta seleccionada y, por tanto, en la relación entre nutrientes, como la energía y la proteína, podrían influir no solo en el rendimiento productivo y en la calidad de los productos obtenidos, sino incrementar la variabilidad entre animales respecto a los sistemas de cebo tradicional. En el presente estudio, como se puede observar en la Tabla 3, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) en el peso de la canal y en el rendimiento comercial, así como en el peso de la no canal y de los diferentes depósitos de grasa (omental, mesentérica y pélvico-renal). Asimismo, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sistemas de alimentación en la conformación ni en las medidas de morfología de la canal. Es oportuno señalar además, que en todos los parámetros citados, la variabilidad individual en los diferentes grupos fue de similar magnitud en los dos sistemas de alimentación estudiados.

Tabla 3. Peso de la canal fría (PCF), peso de la no canal (PNC) y de los depósitos de grasa, rendimiento comercial (RC), conformación (CC) y morfología de la canal (G: anchura de la grupa; K: longitud externa de la canal; L: longitud interna de la canal; F: longitud interna de la pierna).

	Control		Libre Elección		RSD	Nivel de significación		
	H	M	H	M		D	S	D * S
PCF (kg)	12,1	12,0	12,2	11,9	0,40	ns	ns	ns
RC (%)	47,9	47,9	48,6	47,5	1,70	ns	ns	ns
PNC (kg)	9,5	9,5	9,4	9,4	0,39	ns	ns	ns
Grasa Omental (g)	391	212	316	193	86,6	ns	***	ns
Grasa Mesentérica (g)	198	186	220	198	41,5	ns	ns	ns
Grasa PélvicoRenal(g)	222	134	257	128	48,2	ns	***	ns
CC (1-15)	7,7	6,8	7,3	6,8	1,10	ns	ns	ns
G (cm)	20,0	19,6	19,2	18,9	1,87	ns	ns	ns
K (cm)	63,9	64,6	61,9	64,5	2,20	ns	†	ns
L (cm)	53,7	52,1	49,5	52,8	3,71	ns	ns	ns
F (cm)	34,3	35,3	33,8	33,8	1,50	ns	ns	ns

ns: $p > 0,10$; †: $p<0,1$; ***: $p<0,001$. D: efecto debido a la dieta; S: efecto debido al sexo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto CICYT-FEDER IFD1997-1898.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Castrillo, C., Guada, J.A., Gasa, J. (1989). Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales, 4: 111-119.

Colomer-Rocher, F., Delfa, R. y Sierra, I. (1988). Cuadernos INIA Nº 17: 19-41.

Kyriazakis, I. and Oldham, J.D. (1993). British Journal of Nutrition, 69: 617-629.

Landa, R., Mantecón, A.R., Frutos, P., Rodríguez, A.B., Giráldez, F.J. (2001). ITEA, Volumen 97A, Nº 3: 204-216.

SAS (1989). SAS/STAT User's Guide Int. (Version 6, 4th ed.). SAS Institute Inc. Cary. NC.

Villalba, J.J. and Provenza, F.D. (1999). Journal of Animal Science, 77: 378-387.

EFECTO DE LA INGESTIÓN DE FORRAJE Y CONCENTRADO SOBRE EL PESO VIVO DE CORDEROS DE 45 A 90 DÍAS DE EDAD.

Gómez,S.; Landi,H.; González,C.; Bilbao,G.; Castro,A.; Lupidio,C. Fac. Cs. Vet., UNCPBA., 7000 Tandil. Argentina .E-mail: sgomez @vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCIÓN

La cría de corderos separados de sus madres en las explotaciones lecheras constituye una práctica que permite obtener mejores beneficios productivos y económicos en comparación con los sistemas de producción que utilizan técnicas de manejo tradicional. Entre los factores que limitan el crecimiento y desarrollo del ganado ovino estaría la capacidad de ingestión de los animales y esta depende fundamentalmente del tipo de alimento, la dinámica del alimento ingerido en dietas mezclas (Collucci, P.E.y col, 1990), la fibra (FDN) en la dieta para un normal funcionamiento ruminal (Van Soest P.J. y col.1991), nivel y fuente de fibra (Thonney,M.L. y Hogue,E.,2000) y del tamaño del animal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la ingestión de forraje como pellets *vs* picada y concentrado en el peso vivo de corderos desde los 45 a los 90 días de edad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 corderos cruza Frisona Corriedale de 45 días de edad. Se los agrupó en dos tratamientos ó dietas de 12 animales cada uno. Los mismos se agruparon en 3 lotes de 4 animales cada uno, los que se alojaron en corrales semicubiertos de 3 m^2 de superficie. Las dietas, se elaboraron de acuerdo a las necesidades nutritivas requeridas en ésta etapa (González Cano,1990). Las dietas, ofrecidas ad-libitum, fueron: dieta 1 (D1) : 50 % de alimento concentrado : 50% de forraje de alfalfa pellets y la dieta 2 (D2) : 50 % de alimento concentrado :50% de forraje de alfalfa picada. Para la distribución del tamaño de la fibra el análisis se llevó a cabo mediante el empleo de tamices, procedimiento descripto por (Baker y Herrman,1995). Se determinó peso vivo por cordero, semanalmente. Los consumos totales y los componentes de la dieta fueron estimados para cada brete, por diferencia entre la cantidad suministrada y rechazada del alimento, cada 4 días. Se obtuvo de la siguientes ecuaciones (Mantecon, A.R y Bermudez,F.F, 1990) la relación de la ingestión de materia seca ingerida (IMS) con el peso vivo (PV) y la metabolicidad de la dieta (q=energía metabolizable/energía de la dieta). Dietas a base de concentrado:MSI [gr/kg,$^{0.75}$/d]= 150.3-78.0 x q -0.40 PV. (kg) y dietas a base de forraje: MSI [gr/kg,$^{0.75}$/d]=-15+104.7xq +0.307Pv (kg). Los que fueron comparados con los valores de ingestión obtenidos de cada dieta (D1 y D2). Las variables, peso vivo corregido por la covariable peso inicial y la ingestión de materia seca se analizaron por regresión lineal (Reg.SAS, 1993). Para el consumo se utilizó un modelo de parcelas divididas desbalanceado, debido al faenado (Gill,J.1978; InfoStat, 2001). Las variables dependientes del modelo fueron el peso vivo (kg), y consumo considerando al brete como unidad experimental. El nivel de significación entre medias se estableció siguiendo el test de Mínimas Diferencias Significativas ($P<0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Dieta

CUADRO 1. MEDIANA EXPRESADA EN PORCENTAJE DE LA MATERIA SECA DEL FORRAJE DE LAS DIETAS RETENIDA EN LAS MALLAS CON DIFERENTES ABERTURAS (BAKER,1995).

TAMAÑO DE LAS MALLAS (mm)	ALFALFA PELLETS	ALFALFA PICADA
	% de materia seca retenida	
10	-	8.20
5	-	2.44
2	-	20.63
1	36.73	22.49
0.700	17.60	9.56
0.500	19.57	16.34
0.350	10.56	5.09
0.250	7.06	6.52
0.177	3.77	4.43
0.125	2.09	2.56
0.063	1.16	1.74
TOTAL	100	100

Los valores de mediana se calcularon de 3 muestras de alfalfa pelletes y picada

Las dietas D1 y D2 presentaron valores de 89% MS, 76 % DMS, 34 %FDN, 20% FDA, 18% PB y 2.75 Mcal de EM. Las formas de presentación física del forraje (pellets y picada) de las dietas registraron diferencias en un 31,7% de partículas mayores retenidas para D2 sobre los tamices con mallas de 2 a 10 mm de abertura, comparado con D1 (cuadro1).

Peso vivo y consumo

La ganancia diaria de pesos, corregida por peso inicial, muestran diferencias ($p<0.001$) entre las dietas (D1= 0.292 *vs.* D2= 0.208 kg). Los animales alimentados con la D1 manifestaron mayores pesos vivos que con respecto a la D2 ($p<0.0001$), siendo significativos a los 20; 27; 40 y 48 días. Para la variable consumo también se detectó efecto en la interacción tratamiento día, siendo significativos a los 9; 23; 27; 30 y 44 días (cuadro 2). La D1 posibilitaría una mayor tasa de pasaje, por el efecto del procesado del forraje (Colucci y col., 1990).

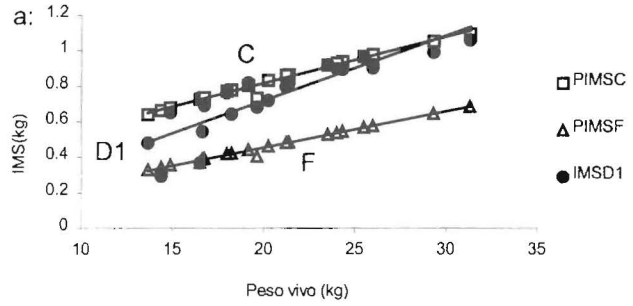
CUADRO 2. VALORES MEDIOS Y SU ERROR ESTÁNDAR DEL CONSUMO TOTAL (KG POR ANIMAL) Y PESO VIVO (KG) PARA CADA DÍA, SEGÚN DIETA.

	CONSUMO TOTAL			PESO VIVO		
Día	Dieta 1	Dieta2	Valor P	Dieta 1	Dieta2	Valor P
6	2.29±0.32 (a)	1.53±0.21 (a)	0.085	14.83±0.63 (a)	14.83±0.63 (a)	0.627
9	2.64±0.19(a)	1.00±0.08 (b)	0.0004			
13	3.22±0.22 (a)	2.49±0.27 (a)	0.097	17.08 ± 0.85(a)	16.33 ±0.38 (a)	0.190
16	2.69±0.52 (a)	2.03±0.24 (a)	0.125			
20	3.50±0.43 (a)	2.84±0.41 (a)	0.136	18.79 ± (a)	17.50± 0.52 (b)	0.032
23	4.30±0.15 (a)	3.28±0.24 (b)	0.021			
27	4.27±0.10 (a)	3.20±0.20 (b)	0.016	20.93 ±1.51 (a)	18.62±0.81 (b)	0.002
30	3.72±0.38 (a)	2.83±0.27 (b)	0.043			
34	4.13±0,43 (a)	3.32± 0.90 (a)	0.065	22.06±1.62 (a)	20.75±1.1 (a)	0.348
37	4.00±0.14 (a)	3.67±0.48 (a)	0.449			
40	3.5 ±0.31 (a)	4.04±0.20 (a)	0.226	26.3±1.55 (a)	22.06±1.12 (b)	0.002
44	5.21±0.28 (a)	2.67± 0.65(b)	0.0001			
48	4.18 ±0.05 a)	4.76± 0.65 (a)	0.184	27.25±1.90 (a)	22.75± (b)	0.003

* $\bar{x}$ ± e.e. Letras diferentes por fila, indican diferencia significativas ($P<0.05$)

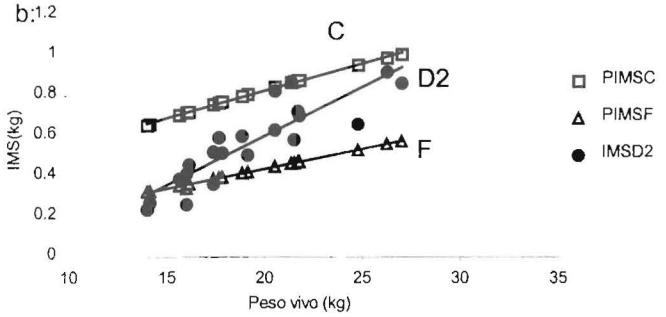
Ingestión de materia seca

La predicción de la ingestión de materia seca para dieta sólo con concentrado o sólo con forraje como se observan en la fig. 1 (Mantecon y Bermudez, 1990) difieren de la ingestión obtenida en nuestro ensayo para una dieta mezcla.
El comportamiento en la ingestión de las dietas mezclas utilizadas en el ensayo son diferentes (fig. 1 a, b), la D1 inicia su ingestión entre los valores intermedios con respecto a los valores predictivos para concentrado y forraje, en cambio la D2 inicia su ingestión en proximidad con los valores predictivos de forraje. La composición mezcla de la dieta D1 favorece la ingestión inicial alcanzando antes valores de ingestión semejantes a los predictivos de concentrado, a diferencia de la D2 donde se observa un menor consumo inicial.
La ingestión de las dietas mezcla de concentrado y forraje de alta calidad se manifestó mas favorablemente cuando se lo suministró en forma de pellets, los animales estarían menos sometidos al estrés, lo que provocaría una mejor adaptación que con respecto a la D2.



PIMSC:predicción de la ingestión de materia seca de concentrado(C) y forraje (F). IMSD1,D2 :ingestión de materia seca dieta 1 y dieta 2

a: D1 comparada con la predicción de la IMS de concentrado y forraje
Formulas: **Yc**:0.026x+0.289 R^2:0.98 **Yf:** 0.020x+0.045 R^2:0.98 **YD1**: 0.036x-0.019 R^2:0.79



b: D2 comparada con la predicción de la IMS de concentrado y forraje
Formulas:**Yc**:0.027x+0.280 R^2:0.99 **Yf:** 0.019x+0.044 R^2:0.99 **YD2**: 0.048x-0.368 R^2:0.77

Figura 1.(a, b). Evolución de la ingestión de materia seca de las dietas.

Se concluye que la ingestión del forraje de la dieta como pellets y picada afectó el peso vivo de corderos desde los 45 a 90 días de edad. La ingestión de dieta mezcla difiere del comportamiento que indican las ecuaciones de predicción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baker,S. ; Herrman,T. 1995. Evaluating Particule Size. Cooperative Extension Service, Kansas State University, Manhattan, KS 1-6.

Collucci,P.E y col.1990. Digesta Kinectics in Sheep and Cattle Fed Diets with Forrage to Concentrate Ratios at High and Low Intakes.Nutrition,Feeding,and calves .Pág.2143-2156.

Gill, J. L.1978. Design and Analysis of Experiments in the Animals and Medical Sciences. The Iowa State University Press,Ames,Iowa;U.S.A. Vol.2.pag.214.

González Cano,J. 1990. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. Ediciones mundi-prensa, 13: 225-243.

InfoStat 2001. Manual del usuario,Versión.Ed.Triunfar S.A., La Rioja. Pag. 69.

Mantecon, A.R. y Bermudez,F.F .1990. La Nutrición del Ganado Ovino durante la fase de Crecimiento-Cebo. Estación Agrícola experimental. CSIC Apdo.788.24080 León. Pág. 38-49.

SAS^R, User's Guide:Statistics, Version 6 Edition 1993. SAS Inst.,Inc., Cary,NC.

Thonney, M. ; Hogue, E. 2000. Source and Level of Fiber for Growing Lambs. Department of Animal Science. Cornell University.

Van Soest J.P. y col. 1991. Methods for Dietary, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition J. Dairy Sci 74: 3583-3597.

Agradecimientos: Al los integrantes del grupo de estadística: Med.Vet. MSs. Rodríguez E., Marinelli C., Torcido S. y Cepeda R. UNCPBA.Tandil. Argentina.

EFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE HENO (*Brachiaria humidicola*) "AMONIFICADO EN SECO" Y LA SUPLEMENTCIÓN CON MELAZA SOBRE LA EVOLUCIÓN DE PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y DIGESTIVOS DE OVINOS EN CRECIMIENTO

Camacho, S.; Santos, M.; Avila, L.; [1]Barrios-Urdaneta, A. y Ventura, M.
Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela

INTRODUCCIÓN

La alimentación de los rumiantes en las regiones tropicales se basa principalmente en la utilización de gramíneas. No obstante, el bajo valor nutricional que estas experimentan durante la época seca, determinan la reducción de la ingestión del forraje, la eficiencia de utilización del mismo y por ende, el aporte de nutrientes al animal. Por tanto, resulta imprescindible aplicar una serie de medidas correctivas a fin de favorecer su aprovechamiento y así mejorar los índices productivos de los rebaños.

La aplicación de tratamientos químicos es una práctica efectiva para mejorar el valor nutritivo del heno, sin embargo, las limitantes de costo y manejo del uso de N-anhidro como se emplea en países desarrollados o las limitaciones de manejo de la aplicación de soluciones de urea utilizadas en regiones tropicales, han motivado la búsqueda de alternativas aplicables bajo nuestras condiciones. En este sentido, se ha desarrollado la técnica de "Amonificación Seca" que combina las bondades de las dos técnicas antes comentadas (Barrios y Ventura, 2002).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la alimentación de ovinos en crecimiento con heno de *Brachiaria humidicola* amonificado en seco y de la suplementación estratégica con melaza, sobre la evolución de parámetros productivos y digestivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la hacienda "La Esperanza" propiedad de la Universidad del Zulia (Edo. Zulia, Venezuela), ubicada en una zona de vida Bosque Seco Tropical, con precipitación promedio de 1.100 mm/año y temperatura promedio de 28° C. La unidad experimental consistió en corderos machos con predominancia racial West African y con un peso promedio de 18,3 ± 3,49 Kg, los cuales previa desparasitación e inyección de complejo vitamínico-mineral fueron distribuidos al azar en 4 lotes de 6 animales cada uno, correspondiéndose cada lote con los tratamientos experimentales [T1: heno de *Brachiaria humidicola* sin amonificar (HNA), T2: heno amonificado en seco (HAS), T3: HAS + 50 gr de melaza/animal/día y T4: HAS + 100 gr de melaza/animal/día], en todos los casos el heno se suministró *ad libitum*. El proceso de Amonificación Seca (AS) se realizó en silos con 450 pacas de heno (± 12 Kg c/u) durante 21 días y se empleó una solución de urea al 10% a razón de 170 ml/Kg de heno. Tras 21 días de adaptación a las jaulas (1 m x 0,5 m x 0,8 m, largo, ancho y alto, respectivamente) y a las dietas experimentales, se procedió al control semanal de ingestión de heno (IVMS) y control quincenal del peso durante 8 semanas. Posteriormente, tras 5 días de adaptación a las bolsas de recolección de heces, durante 5 días se realizaron controles de ingestión de alimento y excreción de heces, para determinar la digestibilidad de la materia seca (DMS) y de la MO (DMO). Las muestras fueron procesadas en el laboratorio (AOAC,

[1]Enviar correspondencia a: abarrios2@cantv.net o mxv@icnet.com.ve
Proyecto (0561-01) financiado por CONDES-LUZ

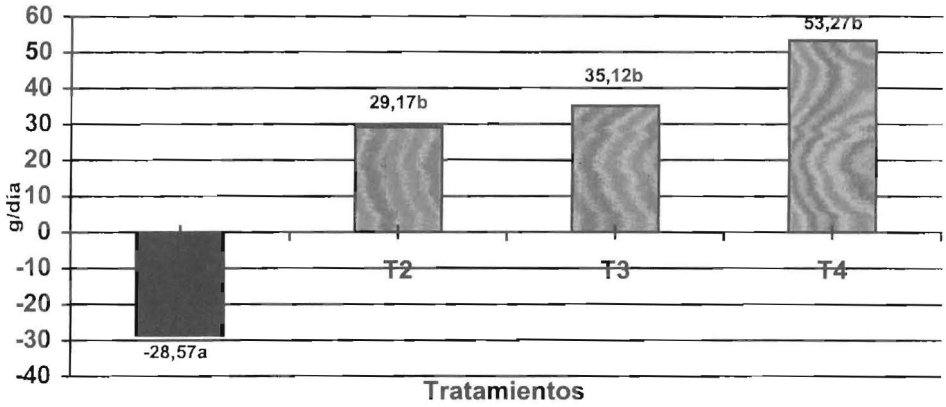
1990) y los resultados analizados de acuerdo a un modelo aditivo lineal completamente al azar, mediante el análisis de varianza y la comparación de las medias por contrastes ortogonales (SAS, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras el proceso de AS, el valor de proteína cruda (PC) pasó del 3% en el heno no tratado al 5,7% en el heno amonificado en seco. Este incremento en el porcentaje de PC fue significativamente inferior al observado por Barrios y Ventura (2002) trabajando con la misma especie en microsilos de amonificación (del 3,2 al 8,2% PC). Probablemente las diferentes condiciones empleadas en ambos trabajos, así como, un mayor tiempo de almacenaje al aire libre (una semana), respecto a casi 1 mes en este trabajo (favoreciendo una mayor liberación de amoníaco), determinaron el menor valor de PC observado.

La alimentación de los corderos con heno de *Brachiaria humidicola* amonificado en seco (T2, T3 y T4) provocó ganancias diarias de peso entre los 57 y 82 g superiores ($p<0,001$) a los alimentados con HNA (T1) (Gráfica 1). A pesar de alcanzarse valores de GDP un 20 y 80% superiores con los tratamientos que incluían melaza (T3 y T4, respectivamente) al tratamiento (T2), tales diferencias no alcanzaron significación estadística ($p>0,1$).

Gráfica 1. *Efecto de la alimentación con heno amonificado en seco y la suplementación con melaza sobre la ganancia diaria de peso de ovinos en crecimiento ($p<0,01$; e.e.m= 0,142).*



La IVMS fue 14% ($p<0,05$) y 17% ($p<0,01$) superior para el promedio de los tratamientos que incluían HAS que con heno no amonificado (T1), cuando se expresó como porcentaje del peso vivo y en relación al peso metabólico de los corderos, respectivamente (Tabla 1). Por su parte, el promedio de los valores de digestibilidad de la MS y de la MO para los tratamientos con HAS fue 7 unidades porcentuales superior al tratamiento T1 ($p<0,05$).

No se detectó efecto ($p>0,10$) del uso de melaza sobre la GDP, IVMS, DMS y DMO del heno amonificado en seco (Tabla 1).

La mayor GDP explicada por una mayor digestibilidad e ingestión voluntaria de heno observada en los tratamientos que incluían HAS, coincide con lo reportado por numerosos autores (Sundstol, 1988; Castrillo y col. 1994), quienes lo explican

por un mayor aporte de nitrógeno no-proteico y por la deslignificación de la pared celular vegetal provocado por el tratamiento de amonificación, lo que favorece un mayor acceso a los carbohidratos utilizables por los microorganismos del rumen.

Tabla 1. *Efecto de la alimentación con heno amonificado en seco y la suplementación con melaza sobre la ingestión voluntaria y digestibilidad de la dieta de ovinos en crecimiento.*

Tratamientos	IVMS (g/100 g PV)	IVMS (g/Kg $PV^{0.75}$)	DMS (g/Kg)	DMO (g/Kg)
T1	2.71	55.0	411.86	436.14
T2	3.01	62.0	477.19	489.69
T3	3.05	64.0	481.89	496.62
T4	3.22	67.3	502.01	533.32
e.e.m.	0.142^{T}	2.84**	21.526^{T}	21.713^{T}
Contrastes				
Heno vs HAS	*	**	**	*
T1 vs T2	*NS*	*T*	*T*	*T*
T1 vs T3	*T*	*	*	*T*
T1 vs T4	**	**	**	**
T2 vs T3	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
T3 vs T4	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*
T2 vs Melaza (T3 y T4)	*NS*	*NS*	*NS*	*NS*

PV= peso vivo; $PV^{0.75}$= peso metabólico. T1 (Heno de *B. Humidicola*, HNA); T2 (Heno Amonificado en Seco, HAS); T3 (HAS + 50 g Melaza/animal/día); T4 (HAS + 100 g Melaza/animal/día).
* = $p<0,05$; ** = $p<0,01$; *** = $p<0,001$; *T*= $p<0,1$; *NS*= $p>0,1$

A pesar de los mayores valores observados para todas las variables estudiadas cuando se compararon los tratamientos que incluían HAS mas melaza (T3 y T4) con el tratamiento sólo HAS (T2), no se observaron diferencias estadísticas ($p>0,1$). Probablemente la magnitud del error debido al efecto animal no corregido por este modelo (a pesar de utilizar 6 animales por tratamiento), enmascaró el esperado efecto positivo de la suplementación con carbohidratos de rápida utilización, por su acople con el amoniaco liberado en el rumen tras la ingestión del heno amonificado (Mould, 1988). Por otro lado, el haber trabajado con un heno amonificado con un nivel de PC inferior al 7%, redujo el impacto positivo que suele provocar la incorporación de una fuente energética de rápida utilización para corregir el desbalance nitrógeno-energía, lo cual es característico en forrajes tropicales con niveles de PC superiores al antes mencionado (Mildfor and Minson, 1965).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). (1990).

Barrios, A. and Ventura, M. (2002).*Livestock Research for Rural Development.* 14 (4)

Castrillo, M. Fondevila, J.A. Guada and A. de Vega.(1994). *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 51 (1-2) pp. 73-90

Mildford, R. and Minson, D.J. (1965). Proc. 9th Intern. Grassld. Congress. Sao Pablo, Brazil. P815.

Mould, F.L. (1988). World Anim. Sci. B Disciplinary approach. Feed Science. Chapt. 11. 279-292

SAS Institute (1988). SAS User's Guide: Statistics. (version 6.03).

Sundstol, F. (1988). World Anim. Sci. B Disciplinary approach. *Feed Science Chapt. 10. pp. 257-273.*

EFECTO DEL USO DE MAÍZ MODIFICADO CON LOS GENES MON810 Y GA21 SOBRE LA INGESTIÓN DE MATERIA SECA, Y LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE EN VACAS HOLSTEIN

S. Calsamiglia[1], B. Hernandez[1], G. F. Hartnell[2], R.H. Phipps[3]. [1]Universidad Autonoma de Barcelona; [2]Monsanto Company, St. Luois, MO, EEUU; [3]University of Reading, Reading, Inglaterra.

INTRODUCCIÓN

La modificación genética de plantas utilizadas en la alimentación animal ofrece la oportunidad de mejorar la productividad, reducir la necesidad de uso de pesticidas y/o mejorar las cualidades nutritivas del alimento (Clark y Ipharraguerre, 2001). El maíz ha sido modificado genéticamente para contener el gen Bt (MaisGard, evento MON810, Monsanto Co., MO, EEUU) que le confiere resistencia frente al insecto barrenador del maíz (*Ostrinia nubilalis*), y el gen de la resistencia al glifosato (RoundupReady, evento GA21, Monsanto Co., MO, EEUU). El uso de las líneas modificadas genéticamente no afecta ni al valor nutritivo ni a la productividad de los animales que la consumen (Clark y Ipharraguerre, 2001). Sin embargo, existe una creciente preocupación por la posibilidad de la presencia de resíduos del gen o las proteínas modificadas genéticamente en los productos para consumo humano. Recientemente, se ha desarrollado una semilla de maíz con la doble modificación (eventos MON810 y GA21), en la cual es necesario investigar los efectos sobre la composición química, el valor nutritivo y los efectos sobre la producción.

El objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la doble modificación genética sobre la composición química, la ingestión y producción en vacas lecheras, y la presencia de residuos en leche.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ocho vacas Holstein con dos o más lactaciones (126 días en leche, 647 kg y condición corporal 2.79) en estabulación fija. El estudio se diseñó como un "single-reversal" con dos periodos. Cada cuadrado se repitió cuatro veces. Las vacas se clasificaron en 4 grupos en base a los días en leche y la media de producción durante los días -4 a -2 previos al inicio del experimento, y se asignaron a cada uno de los tratamientos dentro del cuadrado. En el periodo 2 se cambiaron los tratamientos. Cada periodo consistió en 3 semanas de adaptación y una semana para la toma de muestras. La ración fue formulada para cumplir con las necesidades establecidas en el NRC (2001), y consistió en (base MS): 45% silo de maíz, 10% heno de alfalfa deshidratado, 13% cebada, 11.3% harina de soja, 10% semilla de algodón, 4.3% harina de soja tratada con calor, 1.26% jabón cálcico, 2.1% melaza, y 3% de minerales y vitaminas. El tratamiento consistió en la utilización de dos tipos de silo de maíz. El tratmiento control (CTR) consistió en una variedad no modificada genéticamente (variedad DK493). El tratamiento en estudio consistió en una línea derivada del maíz control a la cual se le realizaron modificaciones genéticas para introducir los genes de la resistencia a plagas (evento MON810) y a herbicidas (evento GA21). Ambos cultivares de maíz se sembraron en Lérida, y se ensilaron en un sistema de bolsas de plástico en la Granja Experimental de la UAB. La recogida y manejo de los silos y la ración se realizó bajo estrictas medidas de control para evitar la contaminación cruzada.

La ración se distribuyó 2 veces al día y las vacas se ordeñaron 2 veces al día. Durante la semana de muestreo se midió la ingestión de MS y la composición química de los silos y la ración completa (MS, PB, FND, FAD, grasa, cenizas, Ca, P,

Na, K y Mg). Adicionalmente, se determinó el pH y la digestibilidad in vitro de los silos. Se midió la producción diaria de leche y se tomaron muestras durante los días 2 a 6 de la cuarta semana de cada periodo para el análisis de grasa, proteína, extracto libre de nitrógeno, lactosa y células somáticas. Se obtuvo una muestra adicional para la determinación de DNA transgénico y la proteína transgénica Cry1 Ab (límite de detección de 0.1 ng/ml). El peso vivo y la condición corporal se determinaron al inicio del experimento y al final de cada uno de los periodos. Los datos de peso vivo y condición corporal se analizaron con el PROC GLM de SAS (Verión 8.0). El resto de datos se analizo como medidas repetidas con el PROC MIXED de SAS (Versión 8.0).

RESULTADOS Y DISCUSION

La composición química y la digestibilidad in vitro de los silos, y la composición química de la ración fue similar entre tratamientos y estuvo dentro de los parámetros esperados (Tabla 1).

Tabla 1. Composición química del silo y las raciones Control y GA21xMON810

	Control	GA21 x MON810
Silo		
MS, %	36.6	38.5
ENl, Mcal/kg MS[1]	1.51	1.50
PB, %	8.95	8.25
FND, %	38.12	41.82
FAD, %	18.51	20.76
NFC, %	43.6	42.0
Ash, %	6.36	5.23
PH	3.80	3.73
DMS-IV[2], %	62.0	61.8
Dieta		
MS, %	53.1	53.3
ENl, Mcal/kg DM[1]	1.66	1.66
PB, %	15.71	15.95
FND, %	34.83	35.65
FAD, %	19.67	18.62
CNF, %	36.0	36.0
EE, %	4.31	3.92
Cenizas, %	9.16	8.47
Ca, %	0.94	0.75
P, %	0.40	0.32

[1] Energía neta de lactación según el modelo NRC (2001).
[2] Digestibilidad in vitro de la materia seca.

Los efectos del tipo de silo sobre la ingestión, producción y composición de leche se presentan en la Tabla 2. El tipo de silo no afectó a la ingestión de MS. La alimentación con el maíz modificado genéticamente resultó en un aumento en la concentración de proteína, lactosa y sólidos no grasos respecto al silo control. Sin embargo, la producción total de leche, leche corregida al 3.5%, grasa, proteína, lactosa o sólidos no grasos, y el conteo de células somáticas fue independiente del tipo de silo. Los tratamientos no afectaron al peso o a la condición corporal.

Tabla 2. Ingestión de materia seca, producción y composición de leche, y cambios de peso vivo y condición corporal en vacas alimentadas con un silo control o modificado genéticamente con los eventos GA21xMON810.

	Control	GA21 x MON810	SE	P<
Ingestión MS, kg/d	22.3	21.9	0.62	0.54
Leche, kg/d	36.7	36.3	0.57	0.52
Leche 3.5% kg/d	34.2	34.5	0.43	0.51
Grasa,				
%	3.13	3.23	0.09	0.28
g/d	1134	1168	24.1	0.22
Proteína,				
%	3.00	3.09	0.03	0.05
g/d	1094	1118	18.8	0.26
Lactose,				
%	4.72	4.83	0.04	0.02
g/d	1727	1748	23.1	0.39
Sólidos no grasos,				
%	8.40	8.60	0.05	0.01
g/d	3070	3115	37.8	0.28
Células somát., log	2.12	2.10	0.12	0.87
Peso vivo, kg				
Medio	658	659	11.8	0.92
Cambio	7.8	7.8	5.2	1.00
Condición Corporal,				
Media	2.93	2.89	0.15	0.83
Cambio	0.15	0.03	0.05	0.11

Todas las muestras de leche fueron negativas a la presencia fragmentos de DNA modificado procedentes del evento GA21 o MON810, o de la presencia de la proteína Cry1 A(b). Estudios previos con maíz modificado con el gen Bt tampoco detectaron residuos del gen o de la proteína en carne de cerdo, sangre, hígado o músculo de pollos, o leche de vacas (Weber y Richert, 2001; Anonymous, 2001; Phipps *et al.*, 2001)

CONCLUSIONES

Los resultados derivados de la composición química de los silos, su valor nutritivo o las respuestas productivas indican que el uso de silo de maíz modificado para contener los genes GA21 x MON810 no afectaron negativamente a la composición química, valor nutritivo o a la producción. No se detectaron residuos de los genes o las proteínas derivadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Anonymous, 2001. Nature 409:657.
Clark, J.H, y I.R. Ipharraguerre. 2001. J. Dairy Sci. (E.Suppl.):E9-E18.
NRC. 2001. Nutrient Requirement of Dairy Cattle, 7th Ed. Nat'l. Acad. Press, Washington, DC
Phipps, R.H., D.E. Beever, y A.P. Tingey. 2001. J. Dairy Sci. 79(Suppl. 1):476.
SAS. 1996. Version 8.0. SAS Inst., Inc. Cary, NC
Weber, T.E. y B.T. Richert. 2001. J. Anim. Sci. 79(Suppl. 1):67.

EXCRECION DE CREATININA Y EVOLUCIÓN DE LA RELACIÓN ALANTOÍNA/CREATININA EN ANIMALES CONSUMIENDO DIFERENTES PROPORCIONES DE CEBADA EN GRANO Y PAJA

O. Valiente, P. Delgado, A. de Vega y J. Balcells
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

En los animales rumiantes el nitrógeno microbiano puede constituir del 33 (Comer *et al.*, 1993) al 92% (Ben-Ghedalia *et al.*, 1978) del nitrógeno total que llega al intestino delgado, por lo que la importancia de su cuantificación es evidente. La excreción urinaria de los derivados del metabolismo de las bases púricas ha sido utilizada como indicador del aporte de proteína microbiana al duodeno, mostrándose como un método sencillo y barato; sin embargo, su empleo exige el conocimiento de la excreción diaria de alantoína o de derivados púricos totales a través de la orina, impracticable en condiciones de pastoreo. En esta situación, se ha sugerido la utilización de la relación derivados púricos (o alantoína)/creatinina en muestras puntuales de orina como un indicador de la excreción total diaria de unos y otra, y por tanto del aporte de proteína de origen microbiano al duodeno (Balcells *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1995). La fiabilidad con que esta relación puede ser utilizada va a depender tanto de la variabilidad diaria que presente como de los valores de excreción de creatinina utilizados (Chen *et al.*, 1995), aspectos ninguno de ellos estudiado en animales consumiendo diferentes proporciones de grano y paja de cebada, y cuyo conocimiento constituye el objetivo del presente trabajo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dieciseis ovejas adultas de raza Rasa Aragonesa, distribuídas en cuatro tratamientos consistentes en distintas proporciones de grano y paja de cebada (60:40, 45:55, 30:70 y 15:85). Tras un periodo de acostumbramiento a las dietas de 24 días se realizó un balance de digestibilidad durante una semana. Con objeto de estudiar las variaciones diarias en el cociente alantoína/creatinina (A/C), durante los tres primeros días del balance se sondó a las ovejas y se recogieron muestras puntuales de orina a las 9:00, 13:00 y 17:00 h, registrándose la producción total de orina durante los siguientes cuatro días con el fin de conocer la excreción diaria de creatinina de cada animal y el efecto de la dieta sobre este parámetro. De la producción diaria de orina se tomó un 10% que se almacenó a –20 °C, descongelándose posteriormente y agrupándose en una muestra única por animal para el análisis de la concentración de derivados púricos. Las muestras puntuales de orina fueron conservadas de la misma manera. El análisis de la concentración de creatinina y derivados púricos en orina se realizó siguiendo la técnica propuesta por Balcells *et al.* (1992). Los resultados de excreción de alantoína, creatinina y el cociente A/C (a partir de muestras de colección total) fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía, y cuando el efecto fue significativo, se realizó un análisis de polinomios ortogonales para establecer la significación de los componentes lineal, cuadrático y cúbico de las regresiones con la proporción de grano en la dieta. El efecto del día y la hora de muestreo sobre la relación A/C fue estudiado a partir de los datos de las muestras puntuales de orina, que fueron sometidos a un análisis de varianza en el que se incluyeron los efectos dieta, animal, día y hora de muestreo, y las correspondientes interacciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las ingestiones de materia seca y materia orgánica digestible, así como las excreciones diarias de alantoína y creatinina, y la relación entre ambos catabolitos.

Tabla 1: Ingestión de materia seca (MSI) y materia orgánica digestible (MODI), excreción urinaria de alantoína (A) y creatinina (C), y relación entre ambos catabolitos (A/C) en ovejas alimentadas con diferentes proporciones de grano y paja de cebada.

Dieta (% grano/paja)	60/40	45/55	30/70	15/85	DER	P
MSI (g/día)	732,3	803,3	722,8	763,7	88,86	0,5875
MODI (g/día)	458,7	475,9	392,0	387,7	57,80	0,1134
A (mmol/día)	$10,3_a$	$7,3_{ab}$	$4,8_b$	$5,1_b$	2,34	0,0276
C (mmol/día)	$13,7_a$	$9,2_b$	$7,3_b$	$7,9_b$	2,74	0,0299
A/C	0,7	0,8	0,6	0,7	0,08	0,0736
A/C ($PV^{0,75}$)	14,8	14,9	12,6	12,5	1,36	0,0550

$_{a, b}$: Tratamientos con subíndices distintos son estadísticamente diferentes; DER: desviación estándar residual; P: probabilidad de la diferencia; A/C ($PV^{0,75}$): relación alantoína/creatinina cuando la excreción de creatinina se expresó por kg de $PV^{0,75}$.

La excreción media de alantoína fue de 6,9±1,17 mmol/día, incrementándose con la mayor proporción de grano, aunque las diferencias sólo alcanzaron significación estadística en los niveles más altos de inclusión (P=0,0276). En lo que se refiere a la excreción media de creatinina, esta fue de 9,6±1,37 mmol/día y tampoco fue constante entre tratamientos, incrementándose de forma significativa (P=0,0299) con la mayor proporción de grano; este valor fue netamente superior a los encontrados por Balcells *et al.* (1991) en ovejas alimentadas a un plano similar al del presente experimento con dietas constituidas por heno de alfalfa y grano de cebada. Sólo el componente lineal de las regresiones entre las excreciones diarias de alantoína (P=0,0083) o creatinina (P=0,0131) y la proporción de grano fue significativo. El coeficiente A/C tendió a variar con el tratamiento experimental (P=0,0736), siendo el valor medio de 0,7±0,04. Cuando la excreción de creatinina fue expresada en función del peso metabólico, la relación A/C mostró un comportamiento similar (P=0,0550), con un valor medio de 13,7±0,68. El valor relativamente bajo del coeficiente A/C obtenido en este experimento podría deberse tanto a la elevada excreción de creatinina como a los reducidos valores hallados para la alantoína, directamente relacionados con el bajo plano de alimentación administrado (0,83 veces mantenimiento).

En la Figura 1 se presenta la evolución de las concentraciones de alantoína y creatinina, y de la relación A/C en las muestras puntuales de orina recogidas a distintas horas de muestreo. Es de destacar que tanto la concentración de alantoína como la de creatinina sufrieron una cierta variación circadiana, aunque el hecho de que ambos compuestos siguieran una misma pauta permitió obtener una relación A/C a lo largo del periodo de muestreo mucho más constante. Tanto la dieta consumida (P=0,0128) como la hora de muestreo (P=0,0080) modificaron el valor del cociente A/C, obteniéndose las más altas relaciones con el mayor nivel de inclusión de grano y en la primera toma de orina de cada día (Tabla 2).

Cuando se relacionaron los valores medios del coeficiente A/C obtenidos a partir de la colección total de orina (y) con los valores medios obtenidos en diferentes combinaciones de muestras puntuales (x_1), los peores resultados se obtuvieron cuando la combinación utilizada fue la de las tres muestras tomadas en el primer día ($y=0,10+0,84x_1$; $r^2=0,252$), mientras que los mejores se alcanzaron

cuando se utilizó el valor medio de las tomas de las 9:00 y las 17:00 h de los tres días de muestreo ($y=0,03+0,93x_1$; $r^2=0,733$). Cuando la relación se estableció con la excreción total de alantoína (x_2), las mejores regresiones fueron las obtenidas utilizando la media de los tres valores del primer muestreo de la mañana ($y=0,36+0,06x_2$; $r^2=0,851$). Estos resultados confirmarían la validez del cociente A/C en muestras puntuales de orina como índice de la excreción total de alantoína en ovejas consumiendo dietas mixtas, eventualidad ya apuntada por Surra *et al.* (1991) en ganado ovino o por Chen *et al.* (1992) en vacuno.

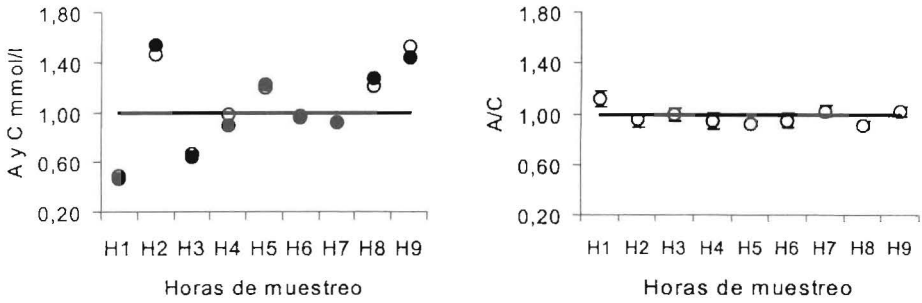


Figura 1: Evolución de la concentración urinaria de alantoína (A, o) y creatinina (C, •), y de la relación alantoína/creatinina (A/C) en muestras puntuales de orina obtenidas a diferentes horas de muestreo (9:00 h: H1, H4 y H7; 13:00 h: H2, H5 y H8; 17:00 h: H3, H6 y H9) en tres días consecutivos. Los valores individuales de cada hora se expresaron como proporción de la media de cada animal. La línea sólida representa el valor medio de todas las muestras, expresado como la unidad.

Tabla 2: Efecto de la dieta (proporción de grano y paja) y de la hora de muestreo (9:00h: H1; 13:00h: H2; 17:00h: H3) sobre la relación alantoína/creatinina en muestras puntuales de orina.

Grano/paja	60/40	45/55	30/70	15/85	Media	DER[2]	P	
							Dieta	Hora
H1	0,96	0,80	0,61	0,72	0,77			0,0128
0,0080								
H2	0,78	0,68	0,57	0,46	0,64	0,240		
H3	0,77	0,67	0,59	0,56	0,67			
Media		0,84	0,76	0,59	0,58			
DER[1]		0,140						

DER[1]: Desviación estándar residual del efecto dieta.
DER[2]: Desviación estándar residual del efecto hora de muestreo.
P: probabilidad de las diferencias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Balcells J, Guada JA, Castrillo C, Gasa J (1991) *Journal of Agriculture Science* **116**, 309-317.
Balcells J, Guada JA, Peiró JM (1992) *Journal of Chromatography* **575**, 153-157.
Ben-Ghedalia DJ, McMeniman NP, Armstrong DG (1978) *British Journal of Nutrition* **39**, 37-44.
Chen XB, Grubic G, Ørskov ER, Osuji P (1992) *Animal Production* **55**, 185-191.
Chen XB, Mejía AT, Kyle DJ, Ørskov ER (1995) *Journal of Agricultural Science* **125**, 137-143.
Comer JC, Amos HE, Froetschel MA, Rangland KK, Williams CC (1993) *Journal of Animal Science* **71**, 3078-3086.
Surra J, Guada JA, Balcells J, Moreno C (1991) *ITEA* **Vol. Extra nº 11**, 199-201.

SINTESIS DE PROTEINA MICROBIANA EN VACAS LECHERAS: EVALUACION DE DIFERENTES METODOS DE ESTUDIO.

Balcells, J., González-Ronquillo, M., Belenguer A. y Guada, J. A.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza.

INTRODUCCION

Tradicionalmente la producción de proteína microbiana en el rúmen ha sido determinada mediante la cuantificación del flujo de proteína total y la de un marcador microbiano en el quimo. Ello requiere la utilización de animales canulados en el duodeno o abomaso. Los ácidos nucleicos o sus metabolitos, las bases púricas (BP), son las sustancias mas comúnmente utilizadas como marcadores microbianos (ARC, 1984), estas sustancia son, además, absorbidas y metabolizadas parcialmente (DP,i.e. alantoína y ácido úrico) y en esta forma excretadas en orina pero también a través de la glándula mamaria.

La relación entre la absorción duodenal de BP y la excreción urinaria de sus derivados metabólicos a sido descrita en diversas especies y situaciones productivas que incluyen animales en lactación (González-Ronquillo *et al.* 2003), para así disponer de una herramienta que permita estimar el flujo duodenal de proteína microbiana sin la agresividad que implican los procedimientos de canulación. Por otra parte, en animales en lactación ha sido descrita también la relación entre flujo duodenal y excreción láctea de purinas (Giesecke *et al.* 1994) pensando en una posible sustitución de la orina por la leche, asumiendo una mayor facilidad de recolección y control de este último elemento.

El objetivo del presente trabajo es determinar la producción de proteína microbiana en vacas en lactación con los procedimientos actualmente disponibles y analizar las diferencias registradas derivadas del método de determinación.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron tres vacas lecheras cruces de Holstein y Friesian, multíparas (3ª lactación) con un peso vivo medio de 558 ± 14 Kg. Los animales disponían de una cánula simple en el saco dorsal del rúmen y una cánula tipo "T" en la parte más craneal del duodeno. Los animales se mantuvieron atados con collar en plaza fija y fueron ordeñados dos veces al día a las 8.00 y a las 17.00 h. La ración mixta (50/50 forraje/concentrado) fue administrada en doce tomas diarias y estuvo compuesta, el forraje, 67 % heno de Veza-Avena, 22 % heno de alfalfa y un 11 % de pulpa de remolacha, el concentrado por 33.7 % cebada, 30 % maíz, 25.5 soja y un 10.2 % de salvado. El tratamiento experimental consistió en administrar la ración "ad libitum" y aplicando dos niveles de restricción el 15 y 25 %, respectivamente. Los tratamientos se aplicaron siguiendo un cuadrado latino 3x3 y cada periodo experimental tuvo una duración de un mes, del cual la primera quincena se destinó a la adaptación de los animales al tratamiento experimental mientras que en el resto se realizaron las determinaciones experimentales.

La producción microbiana se determinó mediante los procedimientos convencionales estimado el flujo duodenal (Faichney *et al.* 1975) e identificando la proteína microbiana en el quimo mediante dos marcadores, uno natural las BP y otro isotópico el ^{15}N. La producción microbiana se estimó también de forma indirecta a partir de la excreción

urinaria y láctea de DP utilizando sendo modelos propuestos por González-Ronquillo *et al.* (2003). Las concentraciones de los marcadores (Cr-Yb) en el quimo y en las soluciones de infusión se determinaron por espectrofotometría de masas. Los DP y creatinina en orina digesta y leche se determinaron por HPLC (Balcells *et al.*, 1992).

RESULTADOS Y DISCUSION

Tabla 1. Flujo duodenal de N, nitrógeno no amoniacal (NNA) BP así como la producción de N microbiano (g/d) estimado de forma directa a partir del enriquecimiento de ^{15}N o el flujo duodenal de BP o de forma indirecta a partir de la excreción urinaria o láctea de DP. Los valores se presentan utilizando la composición de las bacterias asociadas a la fase sólida (BAS) o líquida (BAL).

	Nivel de restricción							
	Ad libitum	*15 %*	*25%*	ESM_1	Sig/Dieta	Media	ESM	Sig/Met
Producción leche (Kg/d)	18.3	20.3	20.3	0.96	NS			
Ingestión MOD (Kg/d)	10.5	13.92	20.3	0.16	**			
Flujo duodenal								
Nitrógeno (g/d)	245.5	200.9	208.5	22.97	NS	218.3		
NNA (g/d)	222.7	186.3	181.9	22.69	NS	196.9		
Bases Púricas Cr-Yb	258.2	216.1	193.6	39.31	NS	222.6	36.03	NS
" " DP orina	314.0	290.7	266.5	13.95	*	290.3		
" " DP leche	236.0	231.2	249.0	25.03	NS	238.0		
Nitrógeno Microbiano								
^{15}N (BAL)	152.4							
(BAS)	194.0							
Bases Púricas								
Cr-Yb (§) (BAL)	131.5	123.6	84.1	31.93	NS	113.0	53.09	***
(BAS)	191.7	142.2	170.4	36.24	NS	168.1	36.03	*
DP Orina† (BAL)	167.5	160.8	115.4	15.73	0.059	147.9		
(BAS)	251.6	192.6	232.9	19.71	NS	225.7		
DP Leche†† (BAL)	115.5	125.2	111.4	8.34	NS	117.4		
(SAB)	180.8	154.0	211.2	10.44	0.095	182.0		

ESM_1: Error estándar que corresponde a la interacción An.x Per. y contra el que se comparó el efecto dieta.
ESM_2: Error estándar residual
§ Valores calculados a partir del sistema de doble marcado propuesto por (Faichney, 1975)
Valores calculados a partir del modelo propuesto por González Ronquillo *et al.*, (2003) a partir de la excreción urinaria de DP en orina† [$y = 58.86 + 0.69\ x$] y leche †† [$y = -5.14 + 0.3765x_1 + 0.011x_2$].

En la tabla 1 se presentan las variaciones registradas en la ingestión de MOD que fueron un reflejo de la restricción a la que fueron sometidos los animales experimentales. Los niveles de producción de leche no fueron modificados por el tratamiento experimental y con ello se consiguió mantener los niveles de producción limitando los niveles de ingestión y consecuentemente la síntesis de proteína microbiana en el retículo-rumen.

El flujo duodenal de N, NNA, BP y nitrógeno de origen microbiano se presentan en la tabla 1. Los flujos de N microbiano fueron siempre inferiores cuando fueron calculados utilizando las bacterias asociadas a la fase líquida, como consecuencia de la mayor relación BP/N determinada en dichos extractos (1.36 y 2.09 para las BAS y BAL, respectivamente P< 0.001). Estas diferencias en la composición química de los extractos confirman resultados previos descritos en bibliografía y estarían relacionados con diferencias en la actividad metabólica entre ambos extractos o con variaciones inducidas por una hipotética selección realizada durante el proceso de extracción de las BAS (Martín-Orúe *et al.*, 1998).

Cuando los animales fueron alimentados "*ad libitum*", la contribución microbiana al N duodenal estuvo determinada por el método de estudio, así el 68 %, 59%, 75% o el 51 % (P<0.001) del N fue de origen microbiano (BAL) cuando el ^{15}N o las BP fueron utilizados como marcadores duodenales o el flujo de BP fue estimado a partir de la excreción de DP a través de la orina o la leche. En relación al efecto del tratamiento experimental sobre los diferentes parámetros a estudio, el flujo duodenal de BP respondió al tratamiento experimental disminuyendo con el nivel de restricción. Sin embargo, las diferencias no alcanzaron en ningún caso significación estadística debido a la elevada variación residual registrada en este parámetro (CV= 23 %) considerando que la máxima variación esperable sería aquella equivalente al nivel de restricción impuesto (25 %). La excreción urinaria de DP fue un reflejo del flujo duodenal de DP y disminuyó con el tratamiento experimental, en este caso la variación residual fue muy inferior (CV= 5%) y por tanto las diferencias en la estimación del flujo duodenal de BP alcanzaron significación estadística (P<0.05). Al expresar dichos resultados en términos de proteína microbiana las diferencias perdieron relevancia estadística (P<0.068). Cuando la excreción láctea se utilizó en lugar de la urinaria como un índice estimador, se apreció un cambio significativo en la respuesta, la excreción de DP en leche incremento con el tratamiento experimental reflejando mayoritariamente las variaciones registradas en la producción de leche

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT 95-0498. El Dr. González-Ronquillo fue financiado por el Instituto de Cooperación Iberoamericana y la Universidad Autónoma del Estado de México.

REFERENCIAS

ARC., 1984. The nutrient requirement of Ruminant Livestock. Suppl. 1. CAB., Commonwealth Agricultural Bureaux, England.

Balcells, J., Parker D.S., Seal C.J., 1992. Comp. Biochem. Physiol. 101B: 633-636.

Faichney, G.J. 1975.. Pages, 277-291 In: Digestion and Metabolism in Ruminant. Eds. I.W. McDonald and A.C.I. Warner. University of New England Publishing Unit, Armidale

González-Ronquillo, M., Balcells, J.,. Guada J.A y Vicente, F. 2003. J. Dairy Sci. 86. In press.

Giesecke, D.J.,. Ehrentreich, L and M. Staingassinger. 1994.. J. Dairy. Sci. 77: 2376-2381.

Martín-Orúe, S.M., Balcells, J., Zakraoui, F., Castrillo, C., 1998. Anim. Feed. Sci. Tech. 71, 269-282.

CONTRIBUCIÓN MICROBIANA AL FLUJO DUODENAL DE PROTEINA EN CORDEROS EN CRECIMIENTO: EFECTO DE LA EDAD Y EL LUGAR DE MUESTREO

Askar, A.R., Guada, J. A., Balcells, J., Castrillo, C. y Fondevila M.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La contribución al flujo duodenal de la proteína microbiana sintetizada en el rumen supone generalmente más de un 50% aunque en rumiantes alimentados con dietas concentradas esta proporción puede ser inferior debido a la menor eficiencia de síntesis microbiana (ARC, 1984). Este efecto unido a la inmadurez del rumen al destete puede condicionar las necesidades de suplementación proteica en la primera fase del cebo intensivo de corderos.

Por otra parte, en corderos jóvenes es obligado recurrir al sacrificio para la toma de muestras del contenido digestivo y la elección del lugar de muestreo puede alterar los resultados por efecto de la descamación celular y la contaminación con secreciones digestivas (Badaway *et al.*, 1958).

En el presente trabajo se ha estudiado la evolución de la síntesis microbiana desde el destete hata el final del cebo comparando el duodeno y el abomaso como lugares de muestreo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 18 ovejas gestantes fueron alojadas en jaulas individuales desde 15 días antes del parto hasta el destete a los 42 días de lactación, permitiendo a cada oveja amamantar exclusivamente un cordero. A partir de la 2ª semana después del parto todos los corderos recibieron "ad libitum" y en comedero accesible solo por gatera un pienso granulado conteniendo 60% de cebada, 28% de torta de soja, 4% de maíz, 0,8% de suero de leche reengrasado al 50% y 7,2% de corrector mineral y aglomerante.

A los 42 días de lactación las ovejas fueron retiradas y se sacrificaron 6 corderos elegidos al azar. Los restantes corderos fueron alimentados "ad libitum" con paja de cebada y un pienso granulado compuesto exclusivamente por cebada (73,4%) y soja (22,5%) junto con el corrector mineral y aglomerante (4,5%). Otros 6 corderos elegidos al azar fueron sacrificados a los 52 días de edad y los 6 restantes a los 72 días. El sacrifico tuvo lugar 3 horas después de la distribución diaria de la comida y se efectuó mediante degüello previo aturdimiento.

Tras el sacrificio, el tracto digestivo fue seccionado y se tomaron muestras del retículo-rumen, abomaso y duodeno, procurando minimizar la descamación del endotelio en el caso el duodeno. En el caso de los corderos de 42 días de edad la toma de muestras se limitó al rumen y el duodeno El contenido ruminal fue filtrado y el fluido sometido a centrifugación diferencial para aislar una muestra microbiana, y el contenido abomasal y duodenal fue congelado y posteriormente liofilizado hasta su análisis. El flujo post ruminal se determinó a partir de la concentración en abomaso del alcano C31 por ser el más abundante en la dieta y el N microbiano se identifico mediante su marcado con 15N que fue administrado durante 5 días antes del sacrificio en forma de 15NH4Cl (10% átomos 15N, ISOTEC, Inc USA) incorporado a los piensos de destete y cebo a razón de 3.0 y 1.6 g /kg MF. El contenido en alcanos se determinó mediante cromatografía de gases y la abundancia de 15N en el nitrógeno total mediante espectrometría de masas (VG modelo PRISM II, IRMS).

Todos los datos se analizaron como un diseño al azar completo por medio del procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 2000), considerando 3 edades con 6 réplicas por edad y dos lugares de muestreo que se analizaron como valores pareados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra el enriquecimiento isotópico del N en las muestras bacterianas y del contenido duodenal y abomasal, estimado por diferencia entre la abundancia en 15N de las muestras enriquecidas y la abundancia natural de muestras equivalentes procedentes de animales mantenidos en las mismas condiciones pero sin recibir el pienso marcado. El enriquecimiento en 15N fue notablemente inferior en los animales de 42 días de edad ($p<0.01$) debido probablemente a la menor ingestión de pienso, a pesar de su mayor contenido en isótopo, aunque no se puede descartar una mayor captación por las bacterias de N preformado en los animales de menor edad. No obstante, el nivel de enriquecimiento alcanzado (1,28±0,206 y 0,23±0,017 ‰ en bacterias y duodeno) fue suficiente para realizar estimaciones fiables.

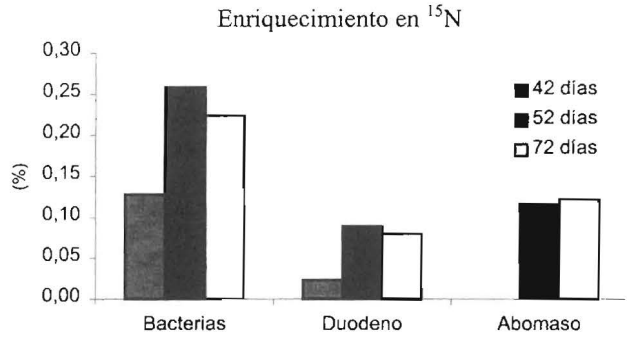


Figura 1. Enriquecimiento isotópico del N bacteriano y del contenido duodenal y abomasal de corderos sacrificados a diferentes edades.

Como era de esperar el grado de enriquecimiento del N bacteriano fue mayor ($p<0,001$) que el del N duodenal y abomasal pero es de señalar la existencia de diferencias significativas entre estos dos últimos ($p<0,001$). El menor enriquecimiento del N duodenal indica su dilución por contaminación con compuestos de origen endógeno, como células de descamación de la mucosa intestinal o jugos digestivos, dando lugar a una importante subestimación de la contribución microbiana (36,2 vs. 53,2 ±2,11; $p<0.001$) que fue similar en ambas edades como se muestra en la tabla 1. Además, esta contaminación ha debido ser muy superior a la que podría inferirse de la diferencia entre ambas fracciones habida cuenta del probable enriquecimiento isotópico alcanzado por los componentes endógenos durante el prolongado periodo de infusión utilizado, particularmente de la mucosa intestinal dado su rápido ritmo de renovación (Garlick, 1980).

Por otra parte, como se muestra en la tabla 1, la proporción de N microbiano en la digesta duodenal fue inferior ($p<0,05$) en los corderos recién destetados, reflejando su menor desarrollo o maduración ruminal. A los 10 días del destete la contribución microbiana, tanto estimada a partir del duodeno como del abomaso, alcanzó ya un nivel similar al del final del cebo, indicando el rápido desarrollo de la fermentación ruminal. En corderos destetados a los 30 días, Fujihara *et al.* (1994) observaron también un incremento en la excreción de derivados púricos urinarios que se estabilizó a los 10-15 días después del destete.

Tabla 1. Proporción de N microbiano en la digesta post-ruminal de corderos en cebo intensivo sacrificados a diferentes edades.

	Edad (días)				
	42	52	72	e.s.	Significación
Origen de la muestra					
Duodeno	18,4b	35,6a	36,4a	3,66	*
Abomaso		46.7	55.4	3,64	ns

El flujo abomasal de N a los 52 y 72 días de edad se presenta en la tabla 2. En ambas edades, solo un 60% del N ingerido fue recuperado en el abomaso en forma de N no amoniacal debido fundamentalmente a la baja eficiencia con que el N degradable fue incorporado por la población microbiana ya que el flujo de N no microbiano coincide con el esperado para una dieta con una degradabilidad de la proteína estimada en un 74%, si se tiene en cuenta que la contribución endógena puede suponer unos 104 mg de N/kg PV0,75 (Ørskov *et al.*, 1986).

La eficiencia de síntesis microbiana fue similar en ambas edades y supuso aproximadamente el 50% del valor medio estimado por el ARC (1984) para forrajes o dietas mixtas. Ello coincide con valores determinados en terneros en cebo intensivo (Vicente *et al.*, 1999) y sugiere que los rumiantes alimentados con dietas concentradas son muy dependientes del aporte de proteína no degradable para cubrir sus necesidades.

Tabla 2. Balance de la digestión del N en el rumen de corderos de diferentes edades alimentados con pienso concentrado y paja.

	Edad (días)			
	52	72	e.s.	Significación
N ingerido (g/d)	13,1	21,9	1,89	**
Flujo abomasal de NAN (g/d)				
Total	8,0	13,1	1,40	*
Microbiano	3,9	7,2	0,84	**
No microbiano	4,1	5,9	0,76	ns
Eficiencia de síntesis microbiana				
N/MOADR (g/kg)	14,7	17,8	2,11	ns

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado con el proyecto de referencia PTR95-0415-OP realizado en colaboración con la Casa de Ganaderos de Zaragoza.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARC (1984). The nutrient requirements of ruminant livestock. Suppl.1.CAB.Slough, England.

Badaway, A.M., Campbell, R.H., Cuthbertson, D.P., Fell, B.F. and Mackie, W.S. (1958). British. Journal of Nutrition, 12, 367-383.

Fujihara, T., Oka, N., Todoroki, M. and Nakamura, K. (1994). Proceeding of Satellite Symposium to VIII ISRP., Warsaw, Poland. PP: 62-65.

Garlick, P. J. (1980). Comprehensive Biochemistry Book. Vol. 19B part 2, protein metabolism. Elsevier. Oxford, New York.

Ørskov, E.R., Macleod, N.A. and Kyle, D.J. (1986). British Journal of Nutrition, 56, 241-248.

SAS.(2000). SAS institute Inc. Release 8.1,cary, NC.USA.

Vicente, F., Guada, J.A., Balcells, J. and Castrillo, C. (1999). Proceedings of the British Society of Animal Science 1999, 215 (abstr.)

CRIOPRESERVACIÓN DEL PROTOZOO RUMINAL *ENTODINIUM CAUDATUM*: EFECTO DE LA RAMPA DE DESCENSO DE TEMPERATURA

G. de la Fuente, M. Fondevila y J. A. Cebrián[1]

Depto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, y
[1] Depto. de Bioquímica y Biología Molecular y Celular
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la presencia de protozoos en el rumen se conoce desde 1843, el estudio de su metabolismo y la valoración de su papel en los procesos de digestión ruminal se ven limitados por las dificultades que presenta su cultivo (Williams y Coleman 1992). El mantenimiento *in vitro* de los protozoos requiere su alimentación diaria con pequeñas cantidades de sustrato, lo que lo hace muy laborioso. Por otra parte, son muy sensibles a la refrigeración y se rompen en un proceso de congelación convencional (de la Fuente y col., 2002). El establecimiento de las condiciones óptimas de congelación de protozoos ruminales es complejo, y existe muy escasa documentación al respecto (Marcin y col. 1992; Kisidayova, 1996; Nsabimana y col. 2002). En este trabajo se desarrolla un método de criopreservación del protozoo ruminal *Entodinium caudatum*, haciendo hincapié en el ritmo de descenso de la temperatura de refrigeración y congelación durante el proceso.

MATERIAL Y MÉTODOS

El monocultivo de *E. caudatum* se obtuvo a partir de una o dos células de una muestra de liquido ruminal ovino, capturadas empleando una pipeta capilar mediante observación en microscopio. Las células se cultivaron en anaerobiosis en tubos con 10 ml de medio M (Dehority 1997). Los cultivos fueron alimentados diariamente con 0.1 ml de una suspensión de 1.5 % maiz y 1.0 % alfalfa molidos a 1 mm. Dos veces por semana se transfirieron 5 ml de cultivo a otro tubo con 5 ml de medio fresco con una pipeta de boca ancha. Dado que los protozoos necesitan bacterias vivas para sobrevivir, las condiciones de esterilidad se limitaron a evitar la contaminación protozoaria. Todas las manipulaciones de los cultivos se realizaron bajo corriente de CO_2. El cultivo se mantuvo estabilizado durante unas 4 semanas antes de iniciar el experimento.

Se centrifugaron (300 x g, 5 min) 10 ml de cultivo de *E. caudatum*, descartándose 9 ml del sobrenadante. El residuo se dividió en alícuotas de 100 µl distribuidas en 8 tubos eppendorf, a los que se añadieron 100 µl de una mezcla de conservación preparada a base de leche en polvo y yema de huevo, incluyendo también glicerol. Las muestras se llevaron a 5 ºC, y tras 10 min se añadieron 4 dosis de 25 µl de una solución de glicerol a intervalos de 6 min para favorecer la entrada del glicerol en las células. Tras 30 min, se distribuyeron en pajuelas de 250 µl selladas con alcohol de polivinilo y se congelaron a –80 ºC. Para descongelar, las pajuelas se sumergieron individualmente en un baño de agua a 38 ºC durante 4 ó 5 segundos.

Se establecieron dos rampas de descenso de temperatura, de 1 y 4 °C por minuto, hasta alcanzar los 5 °C. Se emplearon 3 muestras del mismo cultivo para cada rampa, determinándose la viabilidad celular al inicio (38 °C) y al alcanzar los 15 y 5 °C. Además, tres pajuelas de cada rampa de refrigeración se descongelaron tras 72 h y se determinó la viabilidad y el número de células por pajuela.

La viabilidad de las células del cultivo, estimada en función de la integridad de membrana, se verificó mediante tinción de fluorescencia, añadiendo a 250 µl de cultivo una mezcla constituida por 5 µl de formaldehído, 5 µl of ioduro de propidio y 5 µl de diacetato de carboxifluoresceína e incubando a 37 °C durante 15 minutos (adaptación del método de Harrison y Vickers, 1990). La proporción de células viables (membrana intacta, teñidas en verde) y no viables (membrana dañada, núcleo rojo) en muestras duplicadas de 15 µl se determinó visualmente en un microscopio de fluorescencia a 100 aumentos. La concentración de protozoos en las pajuelas tras su descongelación se determinó mediante recuento de células en microscopio óptico a 100x aumentos, a partir de 150 µl de la muestra teñida para fluorescencia, a la que se añadieron 200 µl de formaldehído 18 %, una gota de verde brillante y 1 ml de glicerol.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La proporción de células viables en función de la rampa de descenso de temperatura se presenta en la Figura 1. La viabilidad descendió de forma lineal con la temperatura entre 38 y 5 °C ($p = 0.001$). Sin embargo, no hubo diferencias entre 5 °C y las muestras que se congelaron a –80 °C ($p > 0.05$), alcanzándose proporciones de células viables del 50 % después de la congelación. No se registraron diferencias significativas entre rampas de descenso de temperatura, ni en la interacción rampa x temperatura ($p > 0.05$). La misma comparación entre resultados se obtuvo al corregir los valores de viabilidad en función de la proporción de células viables a 38 °C. En un experimento anterior, el descenso de temperatura de 38 hasta -20 °C sin modificar las condiciones del medio redujo la proporción de células viables de 83 a 25 % (de la Fuente y col., 2002), lo que demuestra la necesidad del tratamiento previo a la congelación. Trabajos de otros autores refieren tasas de recuperación de células de 8 % para *E. caudatum* (Marcin y col., 1992) y entre 43 y 80 % para los grandes entodiniomorfos (Kisidayova, 1996).

En cualquier caso, el recuento celular de las muestras descongeladas muestra una concentración de *E. caudatum* de 1062 (± 643) y 832 (± 368) células por pajuela para las rampas de 1 y 4 °C por minuto, lo que, asumiendo las proporciones de viabilidad observadas, supondrían 534 y 419 células viables por pajuela, lo que parece garantizar el mantenimiento del cultivo tras su descongelación.

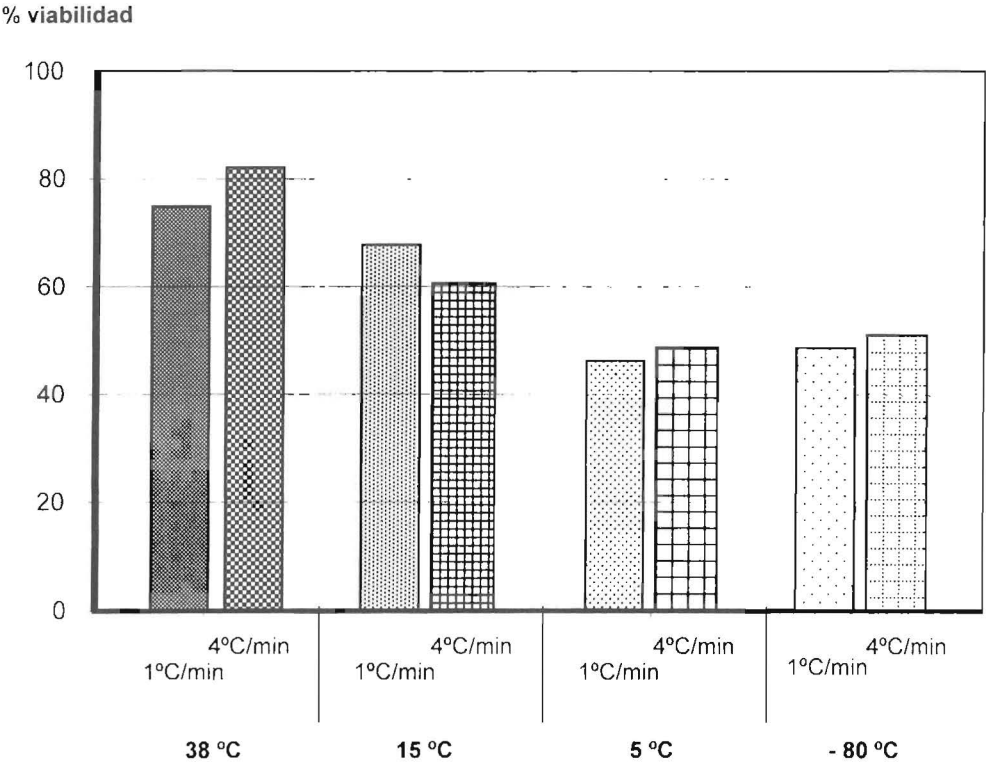
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dehority B.A. 1997. Generation times of *Epidinium caudatum* and *Entodinium caudatum* determined *in vitro* by transferring at various time intervals. J. Anim. Sci. 76: 1189-1196.

de la Fuente G., Fondevila M. y Cebrián J.A. 2002. Viability of *Entodinium caudatum* cultures, estimated by fluorescence microscopy. Reprod. Nutr. Dev. 42: S78-S79.

Harrison R.A.P. y Vickers S.E. 1990. Use of fluorescent probes to assess membrane integrity in mammalian spermatozoa. J. Reprod. Fertil. 88: 343-352.
Kisidayova S. 1996. The cryopreservation of some large ciliate entodiniomorphid protozoa taken from the rumen. Lett. Appl. Microbiol. 23: 389-392.
Marcin A., Kisidayova S., Fejes J., Zelenak I. y Kmet V. 1992. A simple technique for cryopreservation of the rumen protozoon *Entodinium caudatum*. Cryo-lett. 13: 175-182
Nsabimana E., Kisidayova S., Macheboeuf D. y Jouany J.P. 2002. Cryopreservation of rumen protozoa: creation of a European bank of cryopreserved ciliates. Repr. Nutr. Develop. 42: S75-S76.
Williams A.G. y Coleman G.S. (eds.) 1992. Methods used for the separation and cultivation of rumen protozoa. En: The rumen protoza, Brock-Springer Series in Contemporary Bioscience, Springer-Verlag, Nueva York.

Figura 1: Viabilidad (proporción de células con membrana íntegra) de *E. caudatum* en función de la rampa de descenso de temperatura (e.s.m. = 5,89).



EFECTO DEL MODO DE CONSERVACIÓN DE LA ALFALFA SOBRE SU COMPOSICIÓN QUÍMICA Y FRACCIONES PROTEÍCAS DE HOJAS Y TALLOS

F. Vicente, C, Castrillo, M. Mota, O. Valiente, I. A. Domínguez
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.
Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La alfalfa tiene un elevado contenido en proteína, pero su valor nutritivo para los rumiantes se ve limitado por su elevada degradabilidad ruminal, tanto cuando es consumida en fresco como ensilada (Broderick, 2001). Además de ensilada, la alfalfa puede ser conservada desecada, bien de modo natural (heno) o artificial (deshidratación). La henificación es una opción económica pero puede presentar de pérdidas de materia seca y nutrientes con el marchitado y la caída de las hojas, además de posible contaminación con tierra y daños por lluvia o humedad ambiental. El secado artificial, si se realiza con un elevado nivel de humedad, permite minimizar las pérdidas de hojas y puede tener un efecto positivo sobre el valor proteico de la alfalfa al disminuir su solubilidad (Nishino *et al.*, 1994) y degradabilidad ruminal (Broderick *et al.*, 1991).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del modo de desecado de la alfalfa sobre la composición química y la proporción de diferentes fracciones proteicas de las hojas y tallos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un campo de 12 Ha de alfalfa, variedad Aragón, de 4 años de implantación y previo a su 4º corte, se dividió en 12 parcelas de igual superficie. De cada parcela se tomó una muestra representativa inmediatamente después del corte, que fue liofilizada (alfalfa fresca). Otra muestra se dejó desecar durante 5 días al aire (heno) y el resto de la alfalfa de cada parcela fue deshidratada. A cada parcela se le asignó aleatoriamente un tiempo de premarchitado (24 ó 48 horas) y una temperatura de procesado (250, 350 ó 450ºC), contando, por lo tanto, con dos parcelas por tratamiento. En todas las muestras se separaron manualmente las hojas de los tallos, moliendo ambas fracciones a 1 mm de diámetro para su análisis. Para las determinaciones de materia seca (MS), materia orgánica (MO) y proteína bruta (PB) se siguió la metodología propuesta por AOAC (1990). Los análisis de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina se realizaron según Van Soest *et al.* (1991). Por otra parte, la PB fue fraccionada según el método propuesto por Licitra *et al.* (1996). La proteína soluble (fracciones $A+B_1$) fue determinada por incubación de 0.5 g de muestra seca molida en 50 ml de tampón borato-fosfato (pH=6.7) durante 3 horas. Posteriormente se filtró a través de papel Whatman nº54 analizando el contenido en N-Kjeldahl del filtrado. Los contenidos en nitrógeno ligado a la FND y la FAD, necesarios para estimar las fracciones B_2 (N-FND – N-FAD), relacionada con la proteína rápidamente degradable en rumen, B_3 [100 – $(A+B_1)$ – N-FND], relacionada con la proteína lentamente degradable, y C (N-FAD), proteína no degradable, fueron determinados por el método Kjeldahl después de la preparación de la muestra de acuerdo a Goering y Van Soest (1975). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

En el presente trabajo se analizaron los efectos de la fracción botánica (-F-, Hojas vs. Tallos) y de forma de conservación (-C-, Fresca vs. Heno vs. Deshidratado), sin considerar las diferentes condiciones de deshidratado, según un modelo en split-plot, considerando las parcelas como bloque y comparando el efecto conservación con la interacción parcela x conservación (g.l.=22) y los efectos

fracción botánica y la interacción conservación x fracción con el error residual (g.l.=46), con la ayuda del paquete estadístico SAS (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores medios y efectos del modo de conservación y la fracción botánica sobre la composición química de la alfalfa.

Las hojas presentaron un mayor (P<0,001) contenido en cenizas y PB que los tallos (13,0%±0,12 vs. 5,9%±0.11 y 24,3%±0,21 vs. 8,9%±0,13, respectivamente) y una menor proporción de FND, FAD (P<0,001) y lignina (P<0,01) (22,6%±0,34 vs. 64,6%±0,52; 17,2%±0,24 vs. 54,6%±0,52 y 4,8%±0,18 vs. 12,7%±0,16, respectivamente).

Tabla 1. Composición química (sobre %MS) de las hojas y tallos de alfalfa fresca, henificada y deshidratada.

F:	Hojas			Tallos							
C:	Fresca	Heno	Desh.	Fresca	Heno	Desh.	d.e.[1]	F	d.e.[2]	C	FxC
MO	87,2^{a}	87,3^{a}	86,5^{b}	93,6^{b}	94,0^{b}	94,8^{a}	1,50	***	0,54	ns	***
PB	25,5^{a}	23,8^{b}	23,7^{b}	9,4^{a}	9,2^{a}	8,2^{b}	0,60	***	0,93	***	**
FND	20,3^{b}	24,1^{a}	23,5^{a}	61,4^{c}	64,6^{b}	67,7^{a}	1,53	***	1,51	***	***
FAD	15,8^{c}	18,5^{a}	17,4^{b}	51,5^{b}	55,1^{a}	56,0^{a}	1,11	***	1,12	***	***
Lignina	5,1^{a}	5,2^{a}	4,2^{b}	11,8^{b}	13,3^{a}	13,1^{a}	0,74	***	1,06	*	***

Letras diferentes, dentro de cada fracción, indican diferencias significativas (p<0,05).
(1) Raíz cuadrada del cuadrado medio del error para la comparación del efecto tipo de conservación (n=24).
(2) Raíz cuadrada del cuadrado medio del error para la comparación del efecto fracción (n=36) y la interacción F x C (n=12).

La deshidratación disminuyó en un 7 y 13% (P<0,001) el contenido en nitrógeno de hojas y tallos, con respecto a la alfalfa fresca, incrementando entre un 10 y un 15% (p<0,001) la proporción de FND y FAD en ambas fracciones. La henificación provocó un efecto similar sobre la composición química de la alfalfa que la deshidratación, siendo escasas las diferencias encontradas entre ambas formas de conservación, aunque los tallos de la alfalfa deshidratada presentaron un menor contenido en PB (P<0,05) y mayor en FND (P<0,05) y FAD (ns) que los del heno. Por el contrario las hojas de la alfalfa deshidratada presentaron un menor contenido en FND (ns) y FAD (P<0,05) que las de la alfalfa henificada. Tanto la henificación como la deshidratación provocaron un incremento (del 13 y 11 %, respectivamente) del contenido en lignina de los tallos (P<0,05).

En la tabla 2 se presentan los valores medios y efectos del modo de conservación y la fracción botánica sobre la proporción de las distintas fracciones proteicas.

Tabla 2. Fraccionamiento del nitrógeno (en %PB) de las hojas y tallos de alfalfa fresca, henificada y deshidratada.

F:	Hojas			Tallos							
T:	Fresca	Heno	Des.	Fresca	Heno	Des.	d.e.[1]	F	d.e.[2]	C	FxC
A+B$_1$	36,3^{a}	29,6^{b}	24,0^{b}	36,4^{a}	39,9^{a}	28,5^{b}	5,23	***	5,56	***	**
B$_2$	58,5^{a}	63,2^{b}	66,5^{b}	50,4^{a}	45,0^{b}	53,6^{a}	5,47	***	4,80	***	*
B$_3$	3,3^{b}	4,3^{b}	6,3^{a}	2,0^{b}	2,8^{b}	4,0^{a}	1,08	***	1,58	***	ns
C	2,0^{a}	3,0^{b}	3,2^{b}	11,1^{a}	12,4^{b}	13,9^{c}	0,60	***	0,66	***	***

Letras diferentes, dentro de cada fracción, indican diferencias significativas (p<0,05).
(1) Raíz cuadrada del cuadrado medio del error para la comparación del efecto tipo de conservación (n=24).
(2) Raíz cuadrada del cuadrado medio del error para la comparación del efecto fracción (n=36) y la interacción F x C (n=12).

La proteína de las hojas presentó una mayor proporción de las fracciones B_2 (62,7%±0,70 vs. 49,7%±1,29) y B_3 (4,6%±0,34 vs. 2,9%±0,19) y menor de C (2,7%±0,10 vs. 12,5%±0,24) que la proteína de los tallos (P<0,001), tanto en fresco como en el heno y la alfalfa deshidratada. No se observaron diferencias significativas en la fracción soluble ($A+B_1$) entre hojas y tallos de la alfalfa fresca o deshidratada, mientras que en el heno la proteína de los tallos presentó una proporción de proteína soluble superior a la de las hojas (P<0,001).

La deshidratación de la alfalfa promovió tanto en hojas como en tallos un descenso de la proporción de proteína soluble (P<0,001) y un incremento de las fracciones B_2 (P<0,01 en hojas, ns en tallos), B_3 y C (P<0,001). La henificación tuvo un efecto cualitativo similar aunque menos acusado que la deshidratación, sobre las distintas fracciones proteicas de las hojas. En los tallos también promovió un incremento de las fracciones B_3 (ns) y C (P<0,05) pero, a diferencia de la alfalfa deshidratada, la proteína de los tallos de la alfalfa henificada presentó una mayor (ns) proporción de fracción soluble y menor (P<0,05) de fracción rápidamente degradable (B_2) que la alfalfa fresca.

Los resultados del presente trabajo muestran que las hojas de la alfalfa presentan un mayor valor nutritivo para los rumiantes que los tallos, como se deduce de su composición química, al presentar un menor contenido en pared celular y una proporción de nitrógeno tres veces superior. Aunque la deshidratación de las hojas de alfalfa disminuye su contenido en proteína bruta, este descenso se produce fundamentalmente por la pérdida de nitrógeno soluble, mientras que se observa un incremento notable de la proporción de proteína potencialmente degradable no soluble. Podría ser interesante la separación de tallos y hojas en la alfalfa deshidratada, para ser comercializadas por separado, destinando las hojas como fuente de proteína y los tallos como fuente de fibra.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por la Asociación Interprofesional de Forrajes Españoles (AIFE), con la colaboración de Industrias Agrícolas de las Monegros, S.A. (INAMOSA)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC (1990) Official methods of analysis. Association of official agricultural chemist. 15th ed. Arlington. USA.

Broderick, G.A.; Wallace, R.J.; Ørskov, E.R., (1991). En: Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants Ed: T. Tsuda, Y. Sasaki, R. Kawaahima. Academic Press, San Diego, pp. 541-592.

Broderick, G.A. (2001). En: Options Méditerranéennes. Serie A., 45, CIHEAM. pp. 183-192.

Goering, H.K.; Van Soest, P.J., (1975) Forage fiber analysis. Agricultural Research Service. Agricultural handbook nº379, US Departament of Agriculture.

Licitra, G.; Hernandez, T.M.; Van Soest, P.J., (1996) Anim. Feed Sci. and Technol., 57: 347-358

Nishino, N.; Uchida, S.; Ohshima, M., (1994) Anim. Feed Sci. and Technol., 48: 131-141.

SAS (2001) Statistical Analysis System Institute Inc. SAS/STAT User's guide, Cary, NC.

Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lewis, B.A., (1991) J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 618-620

EFECTO DE LA TEMPERATURA Y DEL TIPO DE ENVASE SOBRE LA CONSERVACIÓN DE MUESTRAS DE DISTINTOS ALIMENTOS

A. Gómez Cabrera, M.D. Isac, M.J. Arana, M.D. Pérez, A. Garrido
Dpto. Producción Animal. ETSIAM. Apdo. 3048, 14080 Córdoba

INTRODUCCIÓN

En este trabajo se amplían los resultados publicados previamente en relación con la conservación de muestras de cebada molida (Gómez Cabrera y col., 2001) con el objetivo de comparar el efecto que las condiciones de conservación tienen en función del tipo de producto sometido a conservación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el experimento se utilizaron los siguientes tipos de muestras:

Cebada en grano: Fue conservada de dos formas, como grano entero o molida en molinos de martillos con criba de 1,5 mm.

Harina de girasol, procedente de semilla ucraniana, decorticada y extracta por presión y solvente (hexano), desolventada con vapor, enfriada y molida en molino de martillos con criba de 7 mm.

Alfalfa deshidratada picada, procedente de Lérida, molida en molino de martillos con criba de 1,5 mm, previo picado en picadora de cuchillas.

Las condiciones de conservación (ambiente, 4ºC y –20ºC, en este caso, con sucesivos procesos de congelación y descongelación) y el tipo de envase (bolsa con cierre de cremallera, bote de plástico, bolsa al vacío, bote de vidrio y bolsas al vacío guardadas en bote de vidrio) y el tiempo de conservación (parte a los 3 meses y el resto a los 4 años) se describen en detalle en el trabajo previo (Gómez Cabrera y col., 2001).

Se llevaron a cabo dos tipos de controles: a) Deterioro físico del envase por roedores o enmohecimiento de la muestra. B) Análisis mediante NIRS de la composición química de las muestras (salvo en las muestras de cebada entera), utilizando, en este caso, ecuaciones de calibración obtenidas por nuestro equipo en un aparato FOSS NIRSystems 6500 SY-I, con barrido desde 400 a 2500 nm, utilizando la cápsula circular de 3,5 cm de diámetro (Memoria Proyecto FEDER 1FD1997-0990). Los resultados se analizaron con el programa GLM del paquete estadístico SAS (1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el cuadro nº 1 se recogen los porcentajes de muestras perdidas como consecuencia de la acción de roedores o por deterioro evidente de la muestra. En el almacén a temperatura ambiente todas las muestras perdidas lo fueron por la acción de los roedores, a pesar de disponer de cebos envenenados y un sistema de protección por ultrasonidos, salvo una de heno de alfalfa envasada al vacío (10%) que fue eliminada por pérdida del vacío. Las eliminadas en la cámara de congelación lo fueron por enmohecimiento.

Cuadro nº 1. **Pérdidas de muestras por deterioro físico (%)**

Temperatura	Envase	Producto			
		Cebada		H. girasol	H. alfalfa
		Harina	Grano		
Ambiente	B. cremallera	100	100	80	30
	B. plástico	10	-	-	-
	B. vacío	90	90	60	40*
	B. vidrio	-	-	-	-
	B. vacío/vídrio	-	-	-	-
4ºC	Cualquiera	-	-	-	-
-20 ºC	B. cremallera	100	-	-	-
	Resto	-	-	-	-

* Una muestra (10%) eliminada por pérdida del vacío.

Se aprecia falta de estanqueidad en las bolsas de cremallera, lo que provocó el enmohecimiento de todas las muestra de cebada molida sometidas a congelación/descongelación y la imposibilidad de conservar en bolsas de plástico (de cremallera o al vacío) muestras que puedan estar expuestas al ataque de roedores. En este sentido, se observa que el grado de ataque depende del producto conservado, siendo mayor en los alimentos concentrados (sobretodo el cereal) que en los fibrosos, con una ligera mayor protección en el caso de las bolsas cerradas al vacío, frente a las de cremallera. Excepcionalmente, también fue atacada por los roedores una muestra de harina de cebada conservada en un bote de plástico.

En el cuadro nº 2 se expresan los valores de la humedad (H), proteína bruta (PB) y fibra bruta (FB) de las muestras tras el periodo de conservación. Los respectivos valores iniciales habían sido los siguientes: Harina de cebada (H = 4,62 %; PB = 12,79 %/ms; FB = 5,57 %/ms); Harina de girasol (H= 8,47 %; PB = 43,27 %/ms; FB = 18,14 %/ms); Harina de alfalfa (H = 6,90 %; PB = 19,79 %/ms; FB = 23,64 %/ms).

Cuadro nº 2. Efecto del tipo de envase y de la temperatura de conservación sobre la composición química de las muestras.

	Harina cebada				Harina girasol				Harina alfalfa			
Humedad	Amb	4º	-20º	**Med**	Amb	4º	-20º	**Med**	Amb	4º	-20º	**Med**
Cremallera	5,5	10,7	*	**8,0b**	7,5	9,6	11,6	**9,3bc**	7,6	*	12,8	**9,1bc**
Vacío	5,8	7,8	8,3	**7,0a**	7,6	8,0	9,0	**8,0a**	7,8	9,5	9,6	**8,8b**
Vacio+Vidrio	6,1	7,1	7,5	**6,7a**	7,5	7,9	8,0	**7,7a**	7,5	9,4	8,1	**8,1a**
Vidrio	5,9	6,6	8,4	**6,4a**	7,8	8,8	11,3	**9,1bc**	8,2	11,9	9,8	**9,5c**
Plástico	7,2	11,7	12,3	**9,3c**	7,6	10,3	15,4	**9,8c**	8,0	10,9	11,4	**9,6c**
Media	**6,2a**	**8,8b**	**9,0b**	**7,3**	**7,6a**	**9,0b**	**10,8c**	**8,8**	**7,8a**	**10,4b**	**10,3b**	**8,9**
Proteína B.												
Cremallera	12,6	13,8	*	**13,2b**	41,8	42,1	40,6	**41,5a**	19,7	*	19,7	**19,7ab**
Vacío	12,5	13,5	13,6	**13,0a**	42,7	41,2	41,3	**42,0a**	19,8	19,3	20,1	**19,7ab**
Vacio+Vidrio	13,0	13,5	13,4	**13,2b**	42,0	41,1	42,0	**41,8a**	19,3	19,2	19,4	**19,3a**
Vidrio	13,1	13,5	13,5	**13,2b**	41,8	41,3	40,6	**41,4a**	19,8	20,3	20,1	**20,0b**
Plástico	13,1	13,9	13,8	**13,4c**	43,0	41,8	39,4	**41,8a**	19,8	20,2	19,9	**19,9b**
Media	**12,9a**	**13,6b**	**13,5b**	**13,2**	**42,3b**	**41,5a**	**40,8a**	**41,7**	**19,7a**	**19,7a**	**19,8a**	**19,7**
Fibra B.												
Cremallera	5,2	4,7	*	**4,9a**	18,7	20,0	19,0	**19,1b**	24,6	*	24,3	**24,5ab**
Vacío	5,1	4,9	4,7	**5,0a**	18,0	18,8	19,1	**18,5a**	24,4	25,6	25,2	**24,9bc**
Vacio+Vidrio	5,0	4,9	4,9	**4,9a**	18,3	18,9	18,7	**18,6ab**	24,8	25,8	25,4	**25,2c**
Vidrio	4,8	5,1	4,7	**4,9a**	19,0	20,2	20,3	**19,6c**	24,0	24,3	25,0	**24,3a**
Plástico	4,8	4,8	4,8	**4,8a**	18,0	19,7	20,4	**19,0b**	24,5	24,9	25,1	**24,7abc**
Media	**4,a**	**4,9a**	**4,8a**	**4,9**	**18,4a**	**19,5b**	**19,5b**	**19,0**	**24,5a**	**25,1b**	**25,0b**	**24,8**

* Sin predicción por fallo en la toma de espectros de las muestras.

La **humedad** de las muestras, en el caso de las harinas de cebada y de alfalfa, que tenían una humedad inicial muy baja, aumentó en todos los casos, mientras que la de la harina de girasol, con un valor inicial más normal (8,47 %) sólo experimentó un aumento estadísticamente significativo en la cámara de congelación. Los valores fueron mayores en las cámaras de 4° C y de congelación, lo que podría ser debido a la mayor humedad relativa en la primera (72%, frente aun máximo del 55% en la de temperatura ambiente) y a los procesos de descongelación de la segunda.

Los envases más estancos fueron las bolsas al vacío en bote de vidrio, la bolsa al vacío y el bote de vidrio. Este último, en alguna de las muestras conservadas en las cámaras (alfalfa a 4°C y girasol a –20°C), manifestó falta de estanqueidad, lo que podría estar relacionado con diferencias en el nivel de presión en el cierre de semirrosca. En las cámaras, la menor estanqueidad a la humedad de las bolsas de cremallera y de los botes de plástico aparece de manera evidente, con diferencias que oscilan entre los 2 y los 5 puntos, llegando en algún caso extremo a ser mayor de 7 puntos de humedad, incluso sin considerar las muestras que fueron eliminadas por presentar enmohecimiento.

Las diferencias observadas en relación con el contenido en **proteína bruta** y en **fibra bruta** no fueron sistemáticas, variando en función del tipo de producto conservado. Así, en el caso de la proteína bruta, mientras en la harina de cebada hubo un aumento significativo en las cámaras, en el de la harina de girasol lo que se produjo fue un descenso bastante apreciable en dichas cámaras y, a su vez, en la harina de alfalfa las diferencias fueron prácticamente nulas y, en todo caso, no significativas. Por lo que respecta a la fibra bruta, las diferencias observadas eran, en cierta medida, inversas a las de la proteína. El efecto del tipo de envase tampoco aparece de forma evidente, y, en todo caso, no se observa ninguna relación con la mayor o menor estanqueidad de los mismos puesta de manifiesto en el caso de la humedad.

Podría aventurarse una posible tendencia, que sería la de que en los productos con mayor nivel de proteína (harina de girasol) habría una reducción de esta, con un cierto aumento en la fibra, y lo contrario en los productos más amiláceos, en los que se produciría un ligero aumento de la proteína y un ligero descenso de la fibra. En un producto intermedio, como sería la harina de alfalfa, la proteína se mantendría estable, aumentando ligeramente la fibra. Scehovic (1993) observó un efecto diferente de las condiciones de tratamiento previas al análisis, en distintas especies botánicas analizadas, que coincide con el comportamiento diferente de las muestras observado por nosotros. Sin embargo, Dharmaputra (1997) observó un descenso de la proteína, en lugar de un aumento, en el caso de muestras de maíz molido, que contrasta con la que expresamos anteriormente. En todo caso, no parece haber consenso al respecto entre diferentes autores, que observan tanto aumentos (Molloy y col, 1973) como disminuciones (Nelson y Smith, 1972) de la proteína con la conservación.

BIBLIOGRAFIA

Dharmaputra, O.S. (1997) Biotropia 10: 42-62.
Gómez Cabrera y col. (2001) ITEA 22: 388-390.
Molloy y col.(1973) N.Z.J. Agric. Res. 16: 457-462.
Nelson, C.J., Smith, D. (1972) J. Agric. Food Chem. 20 (1): 125-128.
Scehovic, J. (1993) Arch. Zootech., 42 (156): 41-52.

EFECTO DEL EXTRUSIONADO Y COCIDO LAMINADO DEL MAÍZ, TRIGO, CEBADA, AVENA Y GUISANTE SOBRE LA SOLUBILIDAD DE LOS POLISACÁRIDOS NO AMILÁCEOS Y LA DIGESTIÓN DEL ALMIDÓN

Anguita M., Pérez J.F., Martín-Orúe S., Castillo M.
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Barcelona

INTRODUCCIÓN

La incorporación del procesado tecnológico en la fabricación del pienso, como el tratamiento térmico o la molienda, permite incrementar el valor nutritivo de numerosos ingredientes. En particular, el tratamiento térmico aumenta la gelatinización y la digestión enzimática del almidón, constituyente mayoritario de los cereales y de algunas leguminosas. Sin embargo, en la actualidad han cobrado interés otros constituyentes minoritarios de la ración, cuya digestión en el intestino delgado es más limitada, como son los polisacáridos no amiláceos (PNA). En este sentido, se ha señalado la importancia que los PNA solubles pueden ejercer sobre la proliferación de microorganismos en el tracto digestivo de los animales monogástricos y sobre el riesgo de sufrir patologías digestivas (Pluske et al, 1996).

El presente trabajo pretende valorar el efecto que el extrusionado, cocido laminado y molienda ejerce sobre la solubilidad de los PNA en el maíz, trigo, cebada, avena y guisante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Submuestras de las materias primas originales fueron sometidas a un cocido laminado comercial o bien a un extrusionado. El cocido laminado comercial fue llevado a cabo mediante el sistema Kahl, en el cual los ingredientes originales se someten a unas temperaturas de 100-115º C durante un espacio de tiempo de 45-60 minutos, en función de cada ingrediente. El extrusionado se realizó sobre las muestras originales molidas a 1.5 mm de diámetro.

Todas las muestras, original, cocida y extrusionada, fueron posteriormente molidas a través de tamices de 0.8 mm, 1.5 mm y 3 mm.

En las muestras molidas a 0.8 mm se determinó el almidón total y los polisacáridos no amiláceos (PNA) totales mediante el método descrito por Theander (1991). El almidón se determinó como glucosa libre con el método enzimático HK/G-6-PDH, y el total de PNA como total de monosacáridos hidrolizados mediante cromatografía de gases.

Se realizó una simulación digestiva, basada en la propuesta por Boisen (1991), la cual permitió la determinación de la solubilidad de los PNA y la hidrólisis del almidón. Esta simulación permite una aproximación a los procesos que tienen lugar en el estómago (pepsina, pH 2.0, incubación de cuatro horas) y en el intestino delgado (pancreatina, pH 6.8, incubación de cuatro horas). A las ocho horas de incubación se recogieron alícuotas del sobrenadante. Para el análisis de los PNA solubles (cromatografía de gases), se sometió a la alícuota a una extracción del almidón soluble mediante incubación con amyloglucosidasa y diálisis. De esta forma se evita una contaminación de glucosa en la determinación de los PNA solubles. La determinación de la glucosa libre en el sobrenadante en relación al almidón total se utilizó como índice de hidrólisis del almidón.

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento GLM del SAS (1999).

RESULTADOS

En la tabla 1 se presenta el efecto del procesado térmico, extrusionado y cocido laminado, sobre la hidrólisis del almidón de los diferentes ingredientes. Entre los cereales el procesado térmico aumentó la hidrólisis en el maíz, trigo y la cebada, pero no se observó un aumento en la avena. En el caso del guisante el procesado térmico provocó un incremento apreciable en la hidrólisis del almidón, especialmente en el extrusionado.

Tabla 1.- Influencia del procesado sobre el porcentaje del almidón hidrolizado tras incubación in vitro en las muestras molidas a 1.5 mm.

	MAÍZ	TRIGO	CEBADA	AVENA	GUISANTE
Original	60	65	57	85	34
Cocido laminado	95	100	81	104	53
Extrusionado	88	84	101	89	97

En lo que se refiere al total de polisacáridos no amiláceos su contenido expresado en g/Kg de MS fue 77.2 en el maíz, 88.4 en el trigo, 120.7 en la cebada, 217 en la avena y 134 en el guisante. Sus principales constituyentes fueron insolubles en el medio de incubación. Sin embargo, su solubilidad estuvo condicionada tanto por el tratamiento térmico como por el diámetro de molienda.

De forma general, el extrusionado (Tabla 2) provocó en todos los ingredientes un aumento de la solubilidad respecto al original, mientras que el cocido laminado mostró un incremento menor en el maíz, cebada y avena.

La cantidad de PNA solubles fue de 7.97 g/Kg en el trigo y de 5.46 g/Kg en el guisante, y el incremento asociado al extrusionado de 10 g/kg (7.6 g/Kg Arabinosa +Xilosa) y de 14 g/Kg (10 g/Kg Arabinosa + Xilosa) respectivamente.

La cebada y la avena presentaron un comportamiento similar con relación al tratamiento térmico. Sus contenidos en PNA solubles fueron 11.14 g/Kg en la cebada y 15.34 g/Kg en la avena. Se observó un incremento en la solubilidad de los PNA con el extrusionado (16.4 g/Kg en la cebada y 8 g/Kg en la avena), y con el cocido laminado (5.5 g/Kg en la cebada y 3.7 g/Kg en la avena). El mayor porcentage de solubilidad de los PNA se explicó fundamentalmente por un aumento en la solubilidad de la glucosa.

El maíz presentó un contenido en PNA solubles de 4.59 g/kg. El extrusionado provocó un aumento de 6.1 g/Kg y el cocido laminado de 2.8 g/Kg . Al igual que en el caso anterior la mayor solubilidad de los PNA se explicó por el aumento en la solubilidad de la glucosa.

La molienda, por su parte, provocó cambios en la solubilidad de los PNA en los mismos ingredientes que se vieron afectados por el cocido laminado, maíz, cebada y avena.

Sin embargo tanto en el maíz como en la cebada se observó una tendencia de la interacción en la significación estadística, debido a las mayores respuestas a la molienda observada en los alimentos originales. La molienda aumentó principalmente la solubilidad de los carbohidratos constituidos por glucosa.

Los resultados obtenidos parecen indicar que tanto el tratamiento térmico, extrusionado o cocido laminado, como la molienda fina incrementan la solubilización de los glucanos. En cambio la solubilización de la arabinosa y xilosa (pentosanos) requiere tratamientos mucho más intensos, como representa el extrusionado.

Tabla 2.- Influencia del procesado y tamaño de la molienda sobre la solubilidad de los Polisacáridos no amiláceos (g/Kg) del maíz, trigo, cebada, avena y guisante.

	MAÍZ	TRIGO	CEBADA	AVENA	GUISANTE
Original					
0.8 mm	7,92	10,69	19,80	18,13	6,00
1.5 mm	2,67	7,48	7,58	15,60	6,64
3 mm	3,19	5,74	6,04	12,29	3,74
Cocido laminado					
0.8 mm	8,12	9,95	22,47	23,66	5,64
1.5 mm	8,09	12,95	13,27	14,46	5,65
3 mm	6,07	7,10	14,21	19,02	6,81
Extrusionado					
0.8 mm	10,90	21,23	33,05	27,40	20,66
1.5 mm	14,60	17,26	33,82	25,50	21,34
3 mm	6,75	15,40	15,71	17,01	16,65
error estándar	1,588	2,934	3,621	2,849	1,549
tratamiento térmico	**	**	***	**	***
diámetro molienda	*	NS	**	*	0,098
interacción	0,076	NS	0,055	NS	NS

NS p>0.1 ; * p<0.05 ; ** p<0.01 ; *** p<0.001

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto CYCIT AGL2001-2621-C02-01

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Boisen, S. (1991) En: In vitro digestion for pigs and poultry. Ed. M.F. Fuller. CABInternational. pp. 135-144.

Pluske, J.R., Siba, P.M., Pethick, D.W., Durmic, Z., Mullan, B.P., Hampson, D.J. (1996) The incidence of swine dysentery in pigs can be reduced by feeding diets that limit the amount of fermentable substrate entering the large intestine. Journal of Nutrition, 126: 2920-2933.

SAS Institute Inc. (1999) Version 8.1, Cary N.C.

Theander, O. (1991) Chemical analysis of lignocellulose materials. Animal Feed Science and Technology, 32: 35-44.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 624-626

VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE LOS N-ALCANOS PARA ESTIMAR LA DIGESTIBILIDAD DE LA DIETA Y LA SELECCIÓN DE ALIMENTOS CONCENTRADOS POR CORDEROS EN CEBO

A. R. Askar, A. de Vega, O. Valiente y J. A. Guada
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la capacidad de ingestión individual de los animales, entendida tanto en términos absolutos como de proporciones de los diferentes ingredientes que constituyen la dieta, es de capital importancia, ya que junto con la digestibilidad es el factor que más va a influir sobre el rendimiento de los mismos (Weston, 1996). La metodología convencional disponible para ello es, sin embargo, inabordable en la mayoría de las condiciones prácticas de explotación, por lo que se ha sugerido la utilización de diferentes indicadores como método alternativo de estudio. Los n-alcanos presentes en las ceras de la cutícula de las plantas han sido empleados para esta función en animales pastando forrajes de climas templados (Mayes *et al.*, 1994), aunque su utilidad en el caso de los alimentos concentrados no ha sido todavía contrastada. En consecuencia, el objetivo del presente trabajo fue establecer la posibilidad de utilizar estos marcadores para estimar la digestibilidad y la selección de alimentos concentrados ofrecidos a libre elección a corderos en cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 corderos de raza Rasa Aragonesa, de 6 semanas de edad, alimentados con un gránulo proteico (33% de proteína bruta), bien mezclado con cebada molida en proporciones 25:75 y administrado como granulo de pienso integral junto con paja de cebada a libre elección (tratamiento T) o bien ofrecido en la misma proporción con grano sin moler junto con la paja a libre disposición (CP) o sin ella (C). Las dietas fueron administradas una vez al día a un nivel próximo al de su consumo voluntario para evitar la presencia de rehuso. Tras 10 días de adaptación de los animales en jaulas metabólicas se realizó un balance de digestibilidad de una semana. Del total de heces producidas diariamente por cada animal, se tomó un 10% que fue agrupado para todo el periodo y congelado a –20 ºC, liofilizado y molido a través de una malla de 1 mm. Las muestras de alimentos y rehusos fueron igualmente molidas y conservadas. El análisis del contenido en n-alcanos de los ingredientes de las dietas y de las heces se realizó siguiendo la metodología propuesta por Mayes *et al.* (1986), estimándose la composición de las dietas consumidas según el procedimiento de Mayes *et al.* (1994). Para la estimación de la digestibilidad se utilizó el hentriacontano (C_{31}) como marcador interno. La comparación entre valores observados y estimados se realizó mediante el test de valores pareados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las estimaciones de la composición de la dieta mediante la técnica de los n-alcanos, utilizando los valores individuales de recuperación de cada alcano para cada animal (I), los valores medios por tratamiento (M) o los valores recomendados por la bibliografía (B; Mayes *et al.*,

1986; Dove *et al.* 1999). La metodología de los n-alcanos permitió estimar la composición de la dieta consumida con errores inferiores al 2% cuando se corrigió la concentración fecal con los valores individuales de recuperación, mientras que en el caso de las estimaciones obtenidas corrigiendo con los valores medios por tratamiento las discrepancias con los valores reales fueron mayores pero en todo caso inferiores al 15%. Las estimaciones realizadas utilizando los valores de recuperación recomendados por la bibliografía produjeron resultados todavía más alejados de la realidad, con valores medios relativamente próximos a los observados en las jaulas de metabolismo para la dieta C (diferencias del 18% en el caso del núcleo proteico), pero en ningún caso para las dietas CP y T.

Tabla 1. Valores de composición de la dieta (%) estimados utilizando los valores individuales de recuperación fecal de los diferentes alcanos (I), las recuperaciones medias por tratamiento (M) o los valores recomendados en la bibliografía (B).

	Valor real	Valores estimados		
Tratamiento Componente		I	M	B
T				
Pienso integral	92,9	92,9	92,5	100,0
Paja de cebada	7,1	7,1	7,5	0,0
C				
Cebada en grano	75,2	75,2	75,4	70,6
Núcleo proteico	24,9	24,8	24,6	29,4
CP				
Cebada en grano	70,4	70,6	73,5	100,0
Núcleo proteico	23,1	22,8	19,7	0,0
Paja de cebada	6,5	6,6	6,8	0,0

T: cebada molida (75%) y núcleo proteico (25%) en forma de pienso integral, más paja a libre disposición; C: cebada en grano (75%) y núcleo proteico (25%), administrados de forma independiente; CP: cebada en grano (75%) y núcleo proteico (25%), administrados de forma independiente, más paja a libre disposición.

Se ha sugerido (Laredo *et al.*, 1991) que es necesaria una concentración mínima de alcanos en la ingesta de 50 mg/kg de MS para que su presencia en las heces pueda ser detectada con fiabilidad, así como perfiles muy diferentes en los distintos componentes de la dieta para poder obtener estimaciones de composición de la misma (Dove y Mayes, 1996). En nuestro caso no se dio ninguna de las dos condiciones, ya que la concentración total de n-alcanos en las dietas fue inferior a 15 mg/kg de MS, siendo la de la paja muy superior a las de los otros dos componentes, y sin embargo las estimaciones realizadas utilizando los valores de recuperación fecal individual proporcionaron resultados satisfactorios. La mayor sensibilidad de los nuevos equipos de análisis ha podido contribuir a la consecución de estos resultados, mientras que el empleo de técnicas de análisis discriminante, utilizadas en este caso, evita la necesidad de perfiles muy diferentes.

Los valores de recuperación fecal de los diferentes alcanos empleados para corregir sus concentraciones (Mayes *et al.*, 1986) parecen tener, sin embargo, una importancia fundamental a la hora de estimar con precisión la composición de la dieta, siendo necesario un importante esfuerzo para desarrollar técnicas que

permitan su evaluación en condiciones en que el aislamiento/alojamiento individualizado de los animales no es posible.

La estimación de la digestibilidad de la MS utilizando el alcano C_{31} como marcador interno, y sus valores individuales de recuperación, produjo resultados cuyas discrepancias con los valores obtenidos a partir de la excreción fecal no fueron, en ningún caso, superiores al 0,2% (Tabla 2), y ello a pesar de las diferencias estadísticamente significativas encontradas con las dietas C y CP. Por todo ello, puede concluirse que la metodología de los n-alcanos presenta un gran potencial para el estudio de la composición de la dieta y su digestibilidad (y por tanto de la ingestión) en animales alimentados con dietas concentradas, siempre que sea factible conocer su recuperación fecal, que se presenta como la mayor fuente potencial de error.

Tabla 2. Digestibilidad de la materia seca (%) calculada a partir de la excreción fecal mediante jaulas metabólicas (Jaulas) o estimada a partir de la metodología de los n-alcanos (n-alc.).

Tratamiento	Jaulas	n-alc.	ESM	P
T	74,03	74,02	0,007	n.s.
C	79,96	79,95	0,001	<0,05
CP	75,84	75,69	0,018	<0,05

T: cebada molida (75%) y núcleo proteico (25%) en forma de pienso integral, más paja a libre disposición; C: cebada en grano (75%) y núcleo proteico (25%), administrados de forma independiente; CP: cebada en grano (75%) y núcleo proteico (25%), administrados de forma independiente, más paja a libre disposición.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido financiado con el proyecto de referencia AGL2001-02771.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dove H, Wood JT, Simpson RJ, Leury BJ, Ciavarella TA, Gatford KL, Siever-Kelly C (1999) *Australian Journal of Agricultural Research* **50**, 475-485.

Dove H, Mayes RW (1996) *Journal of Nutrition* **126**, 13-26.

Laredo MA, Simpson GD, Minson DJ, Orpin CG (1991) *Journal of Agricultural Science* **117**, 355-361.

Mayes RW, Lamb CS, Colgrove PM (1986) *Journal of Agricultural Science* **107**, 161-170.

Mayes RW, Beresford NA, Lamb CS, Barnett CL, Howard BJ, Jones BEV, Eriksson O, Hove K, Pedersen ∅, Staines BW (1994) *Science of the Total Environment* **157**, 289-300.

Weston RH (1996) *Australian Journal of Agricultural Research* **47**, 175-197.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 627-629

UTILIZACIÓN DE DIFERENTES ESTÁNDARES PARA EL ANÁLISIS DE TANINOS CONDENSADOS EN ESPECIES VEGETALES

M. Álvarez del Pino, G. Hervás, F.J. Giráldez, A.R. Mantecón y P. Frutos
Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 – 24080 León

INTRODUCCIÓN

Muchas especies vegetales consumidas por los rumiantes contienen cantidades de taninos, básicamente condensados (TC), que pueden modificar su utilización digestiva. El análisis de estos compuestos es, por lo tanto, fundamental para poder estimar su valor nutritivo.

Uno de los métodos más aceptados para la cuantificación del contenido de TC en especies vegetales es el del butanol en medio ácido (butanol-HCl). Los resultados obtenidos utilizando dicho método tienen que ser comparados con un estándar y expresados en función de éste (Porter et al., 1986; Terril et al., 1992; Perez-Maldonado y Norton, 1996).

El compuesto más utilizado como estándar externo para los TC es el tanino comercial de quebracho (extraído de arbustos del género *Schinopsis*). Este producto es una mezcla compleja de taninos condensados y otros compuestos, fundamentalmente fenoles simples, y necesita ser purificado antes de su uso.

No obstante, debido a la enorme variación de los TC dependiendo de su origen (peso molecular, composición química, estructura, etc.), no existe ningún estándar general de aplicación universal y el uso de estándares externos (quebracho, catequinas, etc.), puede sobrestimar o subestimar el contenido real de taninos. Por ello, últimamente se ha sugerido que sería conveniente utilizar estándares internos, es decir, aquellos obtenidos mediante la purificación de los taninos extraídos de la propia planta objeto de estudio. De esta forma, se podrían seleccionar compuestos más homogéneos y con un margen de propiedades más estrecho (Giner-Chávez et al., 1997; Schofield et al., 2001).

Sin embargo, esta alternativa añadiría aún más complejidad a la técnica por lo que, antes de efectuar recomendaciones, es importante evaluar los resultados obtenidos con los diferentes estándares.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de cuatro especies arbustivas: *Erica arborea* y *Erica australis* (familia *Ericaceae*), y *Cytisus cantabricus* y *Genista occidentalis* (familia *Leguminoseae*).

De cada especie se tomaron muestras de tres individuos elegidos al azar, las cuales fueron inmediatamente congeladas y posteriormente liofilizadas. A continuación se llevó a cabo la separación morfológica manual de los tallos, hojas y flores de cada planta. Todas las muestras se molieron a 1 mm.

La extracción secuencial de los taninos libres, los ligados a la proteína y los ligados a la fibra se realizó siguiendo el método desarrollado por Terrill et al. (1992), con las modificaciones de Perez-Maldonado y Norton (1996). Los taninos libres se extrajeron con una solución de acetona al 70% y ácido ascórbico, después de haber eliminado, mediante éter dietílico y acetato de etilo los pigmentos y compuestos fenólicos de bajo peso molecular que pudieran interferir en el análisis. Para la

extracción de los taninos ligados a la proteína se utilizó una solución de dodecil sulfato sódico (DSS), trietanolamina y 2-mercaptoetanol, que rompe los complejos tanino-proteína,. Por último, la cantidad de taninos que permanece en el residuo final, tras varios lavados con metanol y butanol, representa la fracción de taninos ligados a la fibra.

El análisis colorimétrico de los extractos de taninos libres, ligados a la proteína y ligados a la fibra se realizó según el método del butanol-HCl, descrito por Porter et al. (1986) y modificado por Terrill et al. (1992). Este método se basa en la despolimerización y posterior oxidación de los taninos condensados al ser sometidos a ebullición con butanol-HCl.

Como estándar externo se empleó un extracto comercial de taninos condensados de quebracho (*Roy Wilson Dickson. LTD.* Reino Unido) y como estándar interno, los taninos libres extraídos de la propia especie vegetal. En ambos casos (quebracho y taninos de cada planta), la purificación se realizó utilizando un gel de filtración Sephadex LH-20 y siguiendo las indicaciones de Hagerman (1991).

Se prepararon dos rectas de calibración para cada estándar: una para la determinación de los taninos libres y los ligados a la fibra (donde el disolvente utilizado fue el metanol) y otra para los taninos ligados a la proteína (donde se utilizó la solución DSS).

Los datos del contenido de taninos según los distintos estándares se compararon mediante una *t* de Student (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La expresión del contenido de taninos condensados en función de un estándar externo (taninos de quebracho) o interno (taninos extraídos de la propia planta) dio lugar, en todos los casos, a valores significativamente distintos ($p<0,001$).

En las ericáceas (*E. arborea* y *E. australis*), los contenidos fueron siempre superiores ($p<0,01$) cuando se expresaron en "equivalentes de quebracho". Estas diferencias se repitieron en todas las fracciones (taninos libres, ligados a proteína, ligados a fibra y totales). Es interesante destacar que, exceptuando los valores correspondientes a los tallos, los contenidos de taninos condensados obtenidos en función del quebracho no parecen tener ningún sentido desde el punto de vista biológico: es prácticamente imposible que un tejido vegetal pueda contener un 72,66% de taninos.

Los valores observados en las dos leguminosas estudiadas (*G. occidentalis y C. cantabricus*) fueron, por el contrario, generalmente más elevados ($p<0,01$) cuando se expresaron en función de su estándar interno. En este caso, como puede observarse en la tabla adjunta, las mayores diferencias se encontraron en la fracción de taninos ligados a proteína de la especie *C. cantabricus*. Aunque en los pocos trabajos encontrados en la literatura en los que se utilizan estándares externos e internos, se indica que, en las especies estudiadas, el empleo del quebracho sobreestima el contenido de TC (debido a la baja reactividad de los taninos de quebracho frente al butanol-HCl y, consecuentemente, la elevada pendiente de su recta patrón), no tiene por qué resultar extraño que, existiendo en la naturaleza taninos más activos que los del quebracho, puedan existir también otros menos activos. En este sentido, sí se han encontrado referencias de subestimación del contenido de taninos con otros estándares externos, como la catequina (van Hoven y Furstenburg, 1992), la cianidina o la delfinidina (Giner-Chavez et al., 1997).

La disparidad entre los resultados obtenidos con los dos tipos de estándares estudiados podría deberse a diferencias entre la estructura y composición química de los taninos de quebracho y los de cada especie vegetal. Por consiguiente, asumiendo que el estándar interno presenta la estructura y composición química de los taninos de su especie, se puede considerar que los valores obtenidos según este estándar reflejan, de manera más exacta, el contenido real de taninos condensados (Giner-Chávez et al., 1997; Schofield et al., 2001).

Por lo tanto, de acuerdo con esta asunción, y comparando los valores obtenidos con los distintos estándares, se podría concluir que no es aconsejable la utilización del quebracho, como estándar externo, cuando se busca una cuantificación precisa del contenido de taninos condensados.

Tabla 1. Contenido de taninos condensados libres (TCL), taninos condensados ligados a la proteína (TCP), taninos condensados ligados a la fibra (TCF) y taninos condensados totales (TCT) (g/100 g MS) según un estándar externo, quebracho (que), y el estándar interno extraído de cada especie (int).

		TCL		TCP		TCF		TCT	
Especie		int	que	int	que	int	que	Int	que
E. arborea	Flores	10,83	66,60	2,49	5,75	0,05	0,32	13,37	72,66
	Hojas	6,34	39,12	1,92	4,40	0,06	0,40	8,32	43,91
	Tallos	2,62	16,40	1,47	3,34	0,04	0,23	4,13	16,97
Dif (que-int)		34,1(±6,14)		2,5(±0,24)		0,3(±0,03)		36,9(±6,35)	
E. australis	Flores	7,89	43,10	4,69	8,4	0,10	0,52	12,68	52,02
	Hojas	8,83	48,19	2,43	4,34	0,06	0,35	11,32	52,88
	Tallos	2,68	14,82	2,36	4,22	0,06	0,32	5,10	19,35
Dif (que-int)		28,9(±4,60)		2,5(±0,31)		0,3(±0,04)		31,7(±4,74)	
C. cantabricus	Flores	1,06	0,26	11,96	0,88	0,27	0,09	13,29	1,23
	Hojas	0,99	0,24	9,10	0,68	0,31	0,10	10,40	1,02
	Tallos	0,98	0,24	5,00	0,38	0,27	0,09	6,25	0,71
Dif (que-int)		-0,8(±0,02)		-8,0(±1,04)		-0,2(±0,01)		-9,0(±1,05)	
G. occidentalis	Flores	0,05	0,12	0,44	0,26	0,01	0,03	0,50	0,41
	Hojas	0,07	0,17	0,51	0,30	0,01	0,04	0,59	0,51
	Tallos	0,08	0,20	0,41	0,24	0,01	0,03	0,5	0,47
Dif (que-int)		0,1(±0,01)		-0,2(±0,01)		0,02(±0,001)		-0,1(±0,02)	

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Giner-Chavez, B.I.; Van Soest, P.J.; Robertson, J.B.; Lascano,C.; Reed, J.D.; Pell, A.N. (1997). *J. Sci. Food Agric.* 74: 359-368.

Hagerman, A.E. (1991). Miami University. Oxford. OH. USA.

Pérez-Maldonado, R.A.; Norton, B.W. (1996). *Br. J. Nut.* 76: 515-533.

Porter, L.J.; Hrstich, L.N.; Chan B.G. (1986). *Phytochemistry* 25: 223-230.

S.A.S. (1989). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Schofield, P.; Mbugua, D.M.; Pell, A.N. (2001). *Anim. Feed Sci. Technol.* 91: 21-40.

Terrill, T.H.; Rowan, A.M.; Douglas, G.B.; Barry, T.N. (1992). *J. Sci. Food Agric.* 58: 321-329.

van Hoven, W.; Furstenburg, D. (1992). *Comp. Biochem. Phys.* 2: 381-385.

ESTIMACIÓN DE LOS CONTENIDOS DE DISTINTAS FRACCIONES NITROGENADAS DE LA HIERBA EMPLEANDO TECNOLOGÍA NIRS[1]

S. Andrés[1], C. Valdés[1], R. García[1], F.J. Giráldez[2], A. Calleja[1]
[1]Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 León
[2]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apartado 788, 24080 León

INTRODUCCIÓN

La calidad de los forrajes está condicionada, en parte, por su contenido de proteína bruta. Sin embargo, es preciso considerar que, dentro de la proteína bruta de los alimentos, existen distintas fracciones caracterizables analíticamente con diferentes cinéticas de degradación en el rumen (Van Soest, 1994). Así, el Sistema de Carbohidratos y Proteína Neta de Cornell (CNCPS; Sniffen *et al.*, 1992) divide la proteína bruta en tres fracciones: una fracción inmediatamente degradable (fracción A: compuestos nitrogenados de origen no proteico), una fracción no degradable e indigestible (fracción C: nitrógeno asociado a la lignina y la proteína dañada por tratamiento térmico) y, por último, una fracción denominada proteína verdadera (fracción B). Asimismo, el CNCPS subdivide la fracción B en tres subfracciones, B1, B2 y B3, de disponibilidad ruminal decreciente debido a que poseen distinto ritmo de degradación ruminal. No obstante, el fraccionamiento de la proteína según lo propuesto por el CNCPS requiere un procedimiento más complejo que la simple determinación del contenido en proteína bruta (PB), lo cual complica y encarece todo el proceso.

Por tanto, el objetivo del presente trabajo es conocer en qué medida es posible estimar adecuadamente mediante tecnología NIRS cada una de las fracciones propuestas por el CNCPS en muestras hierba obtenidas en prados de la montaña de León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 46 muestras de hierba obtenidas en prados de la montaña de León. Inicialmente, las muestras se desecaron a 60°C en una estufa de aire forzado y se molieron en un molino de martillos tipo Culatti provisto de una malla con un tamaño de paso de 1 mm de diámetro.

Posteriormente se determinaron analíticamente los contenidos de las distintas fracciones de proteína bruta (PB) propuestas por el CNCPS (Sniffen *et al.*, 1992) siguiendo la metodología propuesta por Licitra *et al.* (1996). Así, la fracción A, que representa el nitrógeno de origen no proteico (NNP), se calcula restando al contenido total de N de la muestra el contenido de N del precipitado con ácido tricloroacético (TCA), que a su vez comprende las fracciones B+C; la fracción B, que representa el nitrógeno de origen proteico (NP, proteína verdadera), se calcula como el N precipitable en TCA (B+C) menos el N insoluble en detergente ácido (Fracción C); y, por último, la fracción C, que representa la fracción de N no disponible (no degradable e indigestible), es el N ligado a la fibra ácido detergente (NIDA). Para este trabajo, también se determinó la fracción B3, que representa el N insoluble en

[1] Proyectos ULE 2003-24 (Universidad de León) y "Efecto de la época de corte y de la fermentación mineral sobre el valor nutritivo de forrajes de la Montaña de León" (Diputación Provincial de León).

detergente neutro pero soluble en detergente ácido y que se calcula como el N ligado a la FND menos el N ligado a la FAD.

Los espectros se recogieron con un espectrofotómetro FOSS NIRSystem 6500 (Perstorp Analytical Inc.) utilizando dos cápsulas rectangulares por cada muestra con el fin de obtener un espectro promedio. Para seleccionar un conjunto de muestras representativo de la población total se utilizaron los programas CENTER y SELECT. A continuación, se trataron los espectros con SNV-D y se aplicaron derivadas con diferentes tamaños de gap y segmento de suavizado para corregir el efecto multiplicativo que se produce como consecuencia de las variaciones en la luz difusa. Las ecuaciones de calibración se crearon mediante regresión por mínimos cuadrados parciales modificada y se hicieron dos pases para eliminar muestras espurio. Finalmente, las calibraciones se validaron con las muestras restantes. En este trabajo sólo se presentan las calibraciones que aportaron los errores estándar de predicción más bajos. Se utilizó el programa ISI-NIRS2 versión 4.0 (Infrasoft International, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros no sólo recogen información relacionada con la composición química de las muestras, sino también con su estructura física, y puesto que cada una de las fracciones nitrogenadas ha de agrupar estructuras moleculares diferentes, es de esperar que la estimación de las fracciones nitrogenadas mediante tecnología NIRS pueda llevarse a cabo.

Tabla 1. Rango, media y desviación estándar de las distintas fracciones nitrogenadas para los grupos de muestras empleados en calibración y en validación

	Muestras de calibración (n=35)			Muestras de validación (n=11)		
Parámetro (% MS)	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE
N total (PB)	1,6 - 2,7	2,2	0,30	1,9 - 2,7	2,2	0,22
NNP (Fracción A)	0,27 - 0,69	0,47	0,099	0,27 - 0,57	0,44	0,081
Fracción B+C	1,14 - 2,24	1,71	0,283	1,40 - 2,12	1,77	0,207
NP (B)	0,97 - 1,91	1,33	0,215	1,14 - 1,75	1,35	0,163
Fracción B3	0,49 - 1,19	0,77	0,154	0,70 - 1,00	0,82	0,091
NIDA (Fracción C)	0,11 - 0,75	0,37	0,144	0,23 - 0,59	0,41	0,106

Tabla 2. Estadísticos de las calibraciones creadas para estimar las distintas fracciones nitrogenadas

	n	p	EEC	R^2	EEVC	1-VR	EEP	RPD	RER
N total (PB)	33	6	0,039	0,983	0,058	0,962	0,035	6,29	22,86
NNP (A)	33	5	0,037	0,857	0,064	0,595	0,038	2,13	7,89
Fracción B+C	30	5	0,036	0,983	0,047	0,971	0,021	9,86	34,29
NP (B)	28	8	0,017	0,990	0,058	0,893	0,036	4,53	16,94
Fracción B3	31	4	0,042	0,911	0,062	0,803	0,040	2,28	7,50
NIDA (C)	30	6	0,025	0,971	0,052	0,872	0,023	4,61	15,65

n: número de muestras empleadas para crear la calibración; **p**: número de términos en la ecuación; **EEC**: error estándar de calibración; **R^2**: coeficiente de determinación para el procedimiento de calibración; **EEVC**: error estándar de validación cruzada; **1-VR**: coeficiente de determinación para el procedimiento de validación; **EEP**: error estándar de predicción; **RPD**: relación entre la desviación estándar del grupo de muestras de validación para cada parámetro y el error estándar de predicción; **RER**: relación entre el rango del método de referencia para el grupo de validación y el error estándar de predicción

De hecho, como puede observarse en la tabla 2, excepto para las fracciones A y B3 los estadísticos tanto de calibración como de validación son bastante aceptables, con valores de RPD y RER por encima de 3 y 10 respectivamente, lo cual es recomendable para el análisis de rutina según Williams y Sobering (1996). La estimación del contenido de nitrógeno total (PB) es muy buena para este tipo de muestras, lo cual coincide con lo ya señalado en numerosos trabajos (Hoffman *et al.*, 1999). Sin embargo, al igual que señalan otros autores (Hoffman *et al.*, 1999) no se entiende la razón por la cual la exactitud en la estimación del NNP es tan baja. Quizás la heterogeneidad de esta fracción nitrogenada, compuesta fundamentalmente por proporciones variables de péptidos y aminoácidos no esenciales (Van Soest, 1994) pueda ser una explicación. En cualquier caso, el hecho de eliminar esta fracción y estimar sólo el nitrógeno precipitable en ácido tricloroacético (B+C) proporcionó calibraciones con una exactitud superior a las obtenidas para el caso de la PB.

Por otra parte, el resto de fracciones (B, NIDN, B3, C) pudieron estimarse con una exactitud aceptable, aunque no en la medida en que lo fueron el nitrógeno total (PB) y la fracción B+C, probablemente porque la obtención de aquéllas requiere que, previamente al análisis Kjeldahl, se obtenga la FND en unos casos y la FAD en otros. Tanto la FND como la FAD son parámetros químicamente más complejos que la PB, por lo que se estiman con mayor dificultad mediante tecnología NIRS. Pero si además se pretende estimar el contenido en N de estas fracciones, encontramos una dificultad añadida. Esta explicación se ve reforzada por el hecho de que la fracción que peor se estima sea la B3, para cuyo cálculo requiere los dos análisis, FND y FAD. No obstante, la fracción C que, desde el punto de vista del valor nutritivo de los forrajes tiene un gran interés, ya que representa la fracción de N no digestible, pudo estimarse mediante tecnología NIRS con un grado de exactitud aceptable, lo cual coincide con lo ya señalado por De la Roza *et al.* (1998) con ensilados de maíz y hierba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE LA ROZA, B.; MARTÍNEZ, A.; SANTOS, B.; GONZÁLEZ, J.; GÓMEZ, G., 1998. The estimation of crude protein and dry matter degradability of maize and grass silages by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **6:** 145-151.

HOFFMAN, P.C.; BREHM, N.M.; COMBS, D.K.; BAUMAN, L.M.; PETERS, J.B.; UNDERSANDER, D.J., 1999. Predicting the effect of proteolysis on ruminal crude protein degradation of legume and grass silages using near infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science* **82:** 756-763.

INFRASOFT INTERNATIONAL 1996. *Routine Operation, Calibration Development Manual. NIRS 2.* Version 4.00. Silver Spring, MD, USA.

LICITRA, G.; HERNÁNDEZ, T.M.; VAN SOEST, P.J., 1996. Standarization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* **57**: 347-358.

SNIFFEN, C.J.; O´CONNOR, J.D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J.B., 1992. A Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *Journal of Animal Science* **70:** 3562-3577.

VAN SOEST, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd edn. Comell University Press. Ithaca (EEUU).

WILLIAMS, P.C.; SOBERING, D., 1996. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. En: Near Infrared Spectroscopy: The Future Waves. *Proceedings of the 7th International Conference on Near Infrared Spectroscopy,* Montreal, Canada (Eds. Davies, A.M.C. y Williams, P.C.), pp. 548-551. NIR Publications, Chichester, Reino Unido.

PREDICCIÓN MEDIANTE TECNOLOGÍA NIRS DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS DE DEGRADACIÓN RUMINAL DE LA PROTEINA BRUTA DE FORRAJES

S. Andrés[1], A. Calleja[1], R. Peláez[1], S. López[1], A.R. Mantecón[2], F.J. Giráldez[2]
[1]Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 León
[2]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apartado 788, 24080 León

INTRODUCCIÓN

Para poder cuantificar el valor proteico de los alimentos para rumiantes es imprescindible disponer de información, lo más precisa posible, sobre la degradabilidad ruminal de sus constituyentes nitrogenados. Esta necesidad ha dado lugar a la existencia de un gran número y diversidad de procedimientos que, en condiciones estándar, permiten determinar la degradabilidad de la proteína bruta de los alimentos a nivel ruminal. No obstante, se ha aceptado como método de referencia el procedimiento *in situ,* permitiendo que los sistemas de alimentación describan la proteína de la dieta en función de la proteína degradable y de la proteína no degradable en el rumen. Sin embargo, la aplicación rutinaria de este método implica un trabajo laborioso y costoso en tiempo, medios y dedicación.

Por tanto, el objetivo del presente trabajo es evaluar la capacidad predictiva de la tecnología NIRS para la estimación de los parámetros cinéticos de degradación de la proteína bruta en forrajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 58 henos recogidos en distintas explotaciones de la montaña de León, que representan recursos alimenticios con una variada degradabilidad de la PB y en la que, aunque depende de varios factores, existen diferencias que no han podido ser atribuidas a características concretas. Para la determinación de la degrababilidad *in sacco* de la PB se utilizaron tres vacas de raza Frisona, provistas de una cánula permanente en el rumen, y que recibían una ración diaria compuesta por 4 kg de pienso, 3 kg de alfalfa y 3 kg de paja administrada en dos tomas iguales a las 8 y a las 16 h. Se pesaron 5 g de MS de cada uno de los henos en bolsas de nailon de 10x15 cm de tamaño y un diámetro de poro de 40 μm, que se introdujeron en el rumen de los animales donde fueron incubadas durante 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72 y 96 h, de acuerdo con la metodología propuesta por Mehrez y Ørskov (1977). Una vez lavados, pesados y molidos, los residuos de incubación se analizaron para determinar su contenido en PB (Kjeldahl). Los datos de desaparición de la PB se ajustaron al modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), $P = a + b\left(1 - e^{-c\,(t-L)}\right)$, siendo **P** la cantidad de PB desaparecida de la bolsa a un tiempo **t**, **a** es la ordenada en el origen y representa la fracción soluble que desaparece inmediatamente de la bolsa, **b** es la fracción insoluble potencialmente degradable, **c** es el ritmo fraccional de degradación de la fracción **b** y **L** el tiempo de retraso en el inicio de la degradación. La degradabilidad potencial se calculó como a+b, y la degradabilidad efectiva como $DE_k = a + \frac{b \times c \times \left(e^{-Lk}\right)}{c + k}$, siendo **k** el ritmo de paso.

Se recogieron los espectros de las 58 muestras de henos mediante un espectrofotómetro de infrarrojos InfraAlyzer 500 (Bran+Luebbe GmbH, Norderstedt, Alemania), conectado a un PC. Para ello, se introdujeron las muestras en cápsulas circulares con ventana de cuarzo, que se irradiaron con luz infrarroja entre los 1100 y los 2500 nm, con el fin de obtener una medida de absorbancia cada 2 nm. Para cada muestra se recogieron cuatro espectros en dos cápsulas distintas que, finalmente, fueron promediados.

Los datos espectrales se trataron con derivadas con diferentes tamaños de gap y segmentos de suavizado y las ecuaciones de calibración se crearon mediante regresión por mínimos cuadrados parciales. Unicamente se muestran las calibraciones que ofrecieron los errores estándar de validación cruzada más bajos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1. Rango, media y desviación estándar de los parámetros estudiados, así como los estadísticos de las ecuaciones de predicción obtenidas.

Parámetro	Muestras de calibración (n=58)			p	R^2	R^2_{aj}	EEC	EEVC	RPD	RER
	Rango	Media	DE							
a	18,6 - 48,1	33,2	6,59	3	0,720	0,704	3,588	3,935	1,68	7,50
b	30,3 - 76,9	54,7	9,75	2	0,810	0,803	4,332	4,595	2,15	10,26
c	0,036 - 0,147	0,084	0,0236	6	0,513	0,455	0,0175	0,0197	1,20	5,64
L	0,00 - 3,55	1,48	1,125	2	0,180	0,151	1,036	1,070	1,05	3,31
a + b	74,6 - 95,5	87,8	4,48	3	0,814	0,804	1,987	2,162	2,07	9,68
$DE_{0,02}$	60,9 - 85,2	75,6	4,56	3	0,727	0,712	2,450	2,652	1,72	9,16
$DE_{0,04}$	52,7 - 78,2	67,6	4,65	2	0,602	0,588	2,985	3,233	1,44	7,88
$DE_{0,06}$	46,3 - 72,8	61,9	4,71	3	0,547	0,522	3,256	3,545	1,33	7,47
$DE_{0,08}$	41,9 - 68,4	57,6	4,79	3	0,520	0,494	3,410	3,739	1,28	7,09

a: fracción soluble (%); **b**: fracción insoluble pero potencialmente degradable (%); **c**: ritmo fraccional de degradación de la fracción b (h^{-1}); **L**: tiempo de retraso (h); **$DE_{0,02}$, $DE_{0,04}$, $DE_{0,06}$, $DE_{0,08}$**: degradabilidad efectiva (%) con un ritmo de paso de 0,02, 0,04, 0,06 y 0,08 (h^{-1}) respectivamente; **n**: número de muestras empleadas para crear la calibración; **p**: número de términos en la ecuación; **R^2**: coeficiente de determinación para el procedimiento de calibración; **R^2_{aj}**: coeficiente de determinación ajustado para el procedimiento de calibración; **EEC**: error estándar de calibración; **EEVC**: error estándar de validación cruzada; **RPD**: relación entre la desviación estándar de los valores del grupo de muestras de calibración y el error estándar de validación cruzada; **RER**: relación entre el rango de los valores del grupo de muestras de calibración y el error estándar de validación cruzada

Como puede observarse en la tabla 1, la estimación de la fracción soluble (a) fue menos precisa que la de la fracción insoluble (b). Es posible que la explicación de este hecho pueda encontrarse en la heterogeneidad de esta fracción nitrogenada, compuesta fundamentalmente por proporciones variables de péptidos y aminoácidos (Van Soest, 1994). No obstante, puesto que las muestras incubadas en el rumen se encontraban molidas, puede que, en algunos forrajes, la fracción "a" se haya sobreestimado, impidiendo que, posteriormente, el ajuste de las ecuaciones de calibración pudiera realizarse con éxito.

Por otra parte, también cabe la posibilidad de que existiese una gran variabilidad en las desapariciones de la PB a tiempos cortos de incubación, que son los que afectan, en mayor medida, a la estimación de los parámetros a, c y L mediante el modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979). Esto

también explicaría el hecho de que no hayan podido obtenerse ecuaciones de calibración apropiadas para estimar c y L.

Con el objeto de conocer en qué medida los distintos ritmos de paso de la digesta podían afectar a la exactitud de las estimaciones de la degradabilidad efectiva de los forrajes, ésta se calculó con 4 ritmos distintos. Con los ritmos de paso más altos, el tiempo de retención en el rumen se acorta y, bajo estas condiciones, el peso relativo de los parámetros c y L es más alto que con ritmos de paso más lentos y tiempos de retención más largos, en los que cobra mayor importancia el parámetro b. Así, resulta significativo el empeoramiento de la estimación de la degradabilidad efectiva con los ritmos de paso más rápidos, ya que aumenta el peso relativo del tiempo de retraso (L) y del ritmo fraccional de degradación (c). Todo ello parece ser corroborado por el hecho de que la estimación de la degradabilidad potencial, para cuyo cálculo no es necesario k, c ni L, sea bastante más exacta que cualquiera de las anteriores. No obstante, es improbable que con este tipo de alimentos se den ritmos de paso de 0,06 y 0,08 h^{-1}.

Al igual que ya sucediera en otros trabajos previos (De la Roza *et al.*, 1998), aunque se ha encontrado cierta relación entre los parámetros de la degradabilidad de la PB y los espectros de las muestras obtenidos en el infrarrojo, las ecuaciones de calibración obtenidas no presentan una exactitud lo suficientemente buena como para ser aplicadas rutinariamente. No obstante, hay que tener en cuenta que se ha pretendido predecir mediante tecnología NIRS parámetros estimados a partir del ajuste de los datos de desaparición de PB a un modelo matemático, y que estos parámetros pueden variar en función de los tiempos de incubación empleados. Además, los datos de degradabilidad *in situ* de la proteína bruta se predicen, en general, peor que los de la materia seca debido, probablemente, a la contaminación microbiana de los residuos de incubación.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro más sincero agradecimiento a todos los miembros del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Zaragoza, así como a la Dra. Begoña de la Roza Delgado y al Dr. Pedro L. Rodríguez Medina por su colaboración en este trabajo. Trabajo financiado por el proyecto CICYT-FEDER 1FD1997-0776 y el contrato de investigación Bran+Luebbe-CSIC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DE LA ROZA, B.; MARTÍNEZ, A.; SANTOS, B.; GONZÁLEZ, J.; GÓMEZ, G., 1998. The estimation of crude protein and dry matter degradability of maize and grass silages by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **6:** 145-151.

MEHREZ, A.Z.; ØRSKOV, E.R., 1977. A study of the artificial fiber bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* **88**: 645-650.

ØRSKOV, E.R.; MC DONALD, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Cambridge)* **92**: 499-503.

VAN SOEST, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd edn. Cornell University Press. Ithaca (EEUU).

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 636-638

ESTUDIO DEL GLUTEN DE TRIGO COMO FUENTE DE PROTEÍNA EN DIETAS PARA LECHONES EN TRANSICIÓN

M. Blasco, M. Fondevila y J.A. Guada

Depto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La restricción del uso de suplementos proteicos de origen animal en las dietas para el ganado ha obligado en los últimos años a considerar como alternativa la inclusión de otras fuentes vegetales que hasta ahora no tenían una amplia difusión en la práctica. El gluten de trigo tiene un contenido proteico elevado (80 % proteína bruta), de elevada digestibilidad, aunque por su origen cereal es ligeramente deficitario en lisina y treonina. Además su elevado contenido en glutamina (hasta 30 g/kg) sugiere un efecto beneficioso, previniendo la atrofia postdestete de la mucosa entérica (Wu y col., 1996). Su incorporación en dietas para lechones en fase de transición ha supuesto rendimientos productivos y digestibilidades similares o superiores a los de derivados lácteos o de soja (Richert y col., 1994; Chae y col., 1999). Por otra parte, su tratamiento físico mediante hidrólisis pudiera mejorar la disponibilidad de su proteína para su absorción intestinal.

En este trabajo se estudió el efecto de la sustitución de harina de pescado por gluten de trigo hidrolizado y sin hidrolizar como fuentes de proteína sobre los rendimientos productivos y la digestibilidad de la dieta en cerdos en transición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se formularon 3 dietas experimentales isoenergéticas e isoproteicas para cerdos en transición, que incluyeron un 10 % (prestarter) o un 6 % (starter) de harina de pescado LT (HP), gluten de trigo (GT) y gluten de trigo hidrolizado (TH), suponiendo respectivamente hasta un 33 y un 24 % del aporte proteico de cada dieta. El gluten de trigo (Amytex 100) y el gluten hidrolizado (Solpro 300) fueron provistos por AMYLUM Europa. Las dietas se complementaron con aminoácidos sintéticos para satisfacer las necesidades estimadas por el INRA (1989). Además, se incluyó un 0.1 % de óxido crómico como marcador de digestibilidad.

El experimento se realizó en dos periodos, con 75 lechones destetados de 21 d de edad en cada uno. El día del destete, los animales fueron repartidos por pesos homogéneos en 15 lotes de 5 lechones, que fueron distribuidos entre los tratamientos experimentales (5 lotes por tratamiento) en un diseño en bloques aleatorios, y alojados en corrales de 1,45 x 1,20 m en una nave de ambiente controlado.

Los animales recibieron *ad libitum* la dieta prestarter durante las primeras 2 semanas postdestete (0-2 sem), y la dieta starter desde la tercera a la quinta semanas postdestete (3-5 sem). Se controlo diariamente la oferta de alimento por lote, y cada siete días se pesaron los residuos de alimento y el total de lechones de cada lote. Al finalizar las fases 0-2 y 3-5 (días 14 y 35 del experimento) se seleccionó de cada lote un

animal representativo y se recogieron muestras de heces dos veces por día para estimación de la digestibilidad de la dieta.

Los resultados se analizaron estadísticamente por ANOVA, considerando el periodo experimental como bloque, y comparando los efectos fase postdestete, dieta y su interacción con el error residual. Cuando el efecto periodo resultó significativo, se realizó un ANOVA independiente para cada uno de ellos. El peso inicial de los animales fue incluido como covariable cuando resultó significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El peso inicial de los lechones fue de 6,5 y 5,4 kg en el primer y segundo periodos, respectivamente. Esto, unido a la diferencia de pesos entre lotes dentro de cada tratamiento se manifestó en un efecto significativo del peso inicial sobre la ingestión ($p < 0,001$) y el crecimiento ($p < 0,01$), que se corrigió mediante covarianza. Los rendimientos productivos alcanzados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1: Ingestión (g MS/d), crecimiento (g/d) e índice de conversión (IC; kg/kg) en función de la dieta y la fase postdestete.

	HP	GT	TH	e.s.m.
Ingestión				
0-2 sem	298	295	289	
3-5 sem	836	764	774	16,8
Crecimiento				
0-2 sem	178	179	189	
3-5 sem	521	507	498	15.3
I.C.				
0-2 sem	1,831	1,709	1,561	
3-5 sem	1,618	1,516	1,564	0,1340

Como era previsible, la ingestión y el crecimiento diarios aumentaron ($p < 0,001$) y el índice de conversión disminuyó ($p < 0.10$) con la edad del animal. No se observó un efecto significativo de la dieta en ninguno de estos parámetros, en parte debido a la variabilidad habitual en estos parámetros (coeficientes de variación entre 0,10 y 0,18). No obstante, la ingestión entre la tercera y la quinta semanas postdestete fue numéricamente superior con la dieta HP, diferencia que alcanzó significación estadística cuando el segundo periodo experimental se analizó independientemente ($p < 0,05$).

Los valores de digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO) y proteína bruta (DPB) se presentan en la Tabla 2. Para los tres parámetros, los resultados fueron superiores en la 5ª que en la 2ª semana postdestete ($p < 0,001$). La dieta que incluyó harina de pescado presentó una menor DMS que la dieta GT ($p< 0,05$), y valores de DMO y DPB menores que las dietas GT y TH ($p < 0,01$). Estas diferencias fueron especialmente manifiestas dos semanas después del destete. No se registraron diferencias significativas entre las dietas que incorporaron los

dos tipos de gluten de trigo, aunque en el primer periodo experimental la dieta GT presentó mayores digestibilidades que TH ($p < 0.05$).

Tabla 2: Digestibilidad aparente (g/kg) de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO) y proteína bruta (DPB) en función de la dieta y la fase postdestete.

	HP	GT	TH	e.s.m.
DMS	**789 b**	**822 a**	**812 ab**	**9,6**
2 sem	745 b	785 a	780 ab	
5 sem	832	859	844	13,6
DMO	**796 b**	**829 a**	**823 a**	**7,7**
2 sem	765 b	806 a	805 a	
5 sem	826	853	840	10,8
DPB	**718 b**	**800 a**	**776 a**	**10,7**
2 sem	686 b	792 a	758 a	
5 sem	750 b	808 a	795 a	15,1

En cada fila, letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

La sustitución de una fuente de proteína de alta calidad para la alimentación de los lechones recién destetados, como la harina de pescado LT, por harina de gluten de trigo reduce el consumo de alimento entre 62 y 72 g/d durante la fase de transición, y no afecta al crecimiento diario en las 5 semanas postdestete. La digestibilidad aparente de las dietas que incorporaron gluten de trigo resultó superior a la de la dieta con pescado, especialmente durante las dos primeras semanas de transición. La ausencia de diferencias significativas entre el gluten hidrolizado empleado (Solpro 300) y el gluten sin hidrolizar limita aparentemente el interés de este tratamiento físico en dietas para cerdos recién destetados.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por AMYLUM Europa (contrato OTRI 2001/0246).

REFERENCIAS

Chae B.J., Han I.K., Kim J.H., Yang C.J., Hancock J.D., Kim I.H. y Anderson D.A. 1999. Effects of dietary protein sources on ileal digestibility and growth performance for early-weaned pigs. Livestock Production Science 58: 45-54.

INRA, 1989. L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volailles (2e édition). Institun National de la Recherche Agronomique, París.

Richert B.T., Hancock J.D. y Morrill J.L. 1994. Effects of replacing milk and soybean products with wheat glutens on digestibility of nutrients and growth performance in nursery pigs. Journal of Animal Science 72: 151-159.

Wu G., Meier S.A. y Knabe, D.A. 1996. Dietary glutamine supplementation prevents jejunal atrophy in weaned pigs. Journal of Nutrition 126: 2578-2584.

EFECTOS DE LOS EXTRACTOS DE PLANTAS, EN COMBINACIÓN CON ÁCIDO FÓRMICO, SOBRE EL EQUILIBRIO DIGESTIVO DE LECHONES DESTETADOS PRECOZMENTE

Manzanilla E.G., Martín M.(*), Baucells F., Perez J.F., Gasa J.
Departament de Ciencia Animal i dels aliments (*Departament de Sanitat i Anatomia), Facultat de Veterinaria. Universitat Autonoma de Barcelona.08193 Bellaterra. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Tras la prohibición durante el verano de 1.999 del uso de antibióticos como promotores del crecimiento en la alimentación de lechones, las empresas del sector ganadero buscan alternativas que permitan mantener los niveles de producción sin empeorar el estado sanitario del ganado.

Entre las posibles alternativas destacan los acidificantes por los buenos resultados obtenidos (Partanen y Mroz, 1999) aunque no alcanzan a igualar los registrados con los antibióticos. Otra propuesta con posibilidades en la actualidad son los extractos de plantas (Mellor, 2000). En la bibliografía se dispone de información relativa a la utilización de muchos de estos extractos en alimentación humana. Sin embargo, los experimentos realizados en porcino son escasos. Por otra parte, se desconocen las posibles sinergias por la utilización conjunta de dos o más de estos aditivos añadidos al mismo pienso.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de incorporar una mezcla de extractos de plantas (**XTRACT®**), en combinación con ácido fórmico, a raciones de lechones destetados precozmente sobre la estructura, la población microbiana del intestino y los rendimientos productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en una granja experimental de ambiente controlado donde se alojaron 144 lechones cruzados ((Ld x Lw) x P) recién destetados (20±2 ds) con un peso inicial de 6.0±0.4Kg y seleccionados de un total de 500.

Se utilizó un diseño factorial 2x2 resultante de la combinación, como factores principales, de dos niveles de inclusión del XTRACT (0 y 300 ppm) con la inclusión o no de ácido fórmico a un 5 kg/Tm. Desde el destete hasta los 14 días post-destete (periodo pre-experimental), los animales fueron alimentados con una dieta pre-estarter comercial (cereales 60%, lácteos 20 %, soja extrusionada 10%) sin ningún tipo de aditivo. A partir del día 14 post-destete hasta el día de su sacrificio, los días 39 y 40 post destete, (periodo experimental) se administró las dietas experimentales constituidas por un 60% cereales, 21% soja 44 y 10% soja extrusionada. Se añadió un 0.15 % de óxido crómico como marcador de digestibilidad.

Los animales fueron distribuidos en 4 replicas de 9 lechones en cada tratamiento. La distribución se hizo al azar procurando que las réplicas tuviesen pesos homogéneos al inicio del experimento.

Los animales fueron pesados semanalmente y se controló la ingestión de cada réplica. Entre los días 36 y 38 post-destete se procedió a homogeneizar entre réplicas la pauta de consumo de pienso a lo largo del día, permitiendo entre las 8:00 y las 20:00 (12h/d) el consumo "ad libitum" durante un periodo de media hora de

cada 1:30 h. Los días 39 y 40 fueron sacrificados un total de 8 lechones representativos de cada tratamiento (32 animales en total). Tras el sacrificio se tomaron muestras de yeyuno para llevar a cabo el estudio histológico y de ileon y recto para la determinación del contenido total de bases púricas (Makkar y Becker, 1999). Las muestras de tejido fueron deshidratadas, incluidas en parafina, cortadas en secciones de 3 μm y teñidas con hematoxilina-eosina. De cada muestra se realizaron 10 medidas y la media fue tomada como unidad experimental. Los recuentos se realizaron a partir del mismo día de sacrificio utilizando diluciones comprendidas entre 10-1 y 10-8 en solución salina estéril. El recuento de enterobacterias se obtuvo en agar MacConkey (Oxoid, Ref. CM 115) y el de lactobacilos en agar Rogosa (Oxoid, Ref. CM 627). Todos los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS 8.1 (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se registraron efectos de los factores principales sobre los parámetros productivos. Solo la GMD mostró una tendencia a la significación de la interacción (p=0.059) acompañada de las mismas diferencias numéricas en el CMD. En concreto la inclusión de **XTRACT®** tendió a incrementar la GMD de los lechones en combinación con el acidificante pero mostró el efecto contrario cuando se añadió sin acidificante. El IC no se vio afectado significativamente, pero numéricamente fue menor en los animales tratados con ambos aditivos de forma simultanea. Tras el cambio de dieta al inicio del periodo experimental tuvo lugar un episodio generalizado de diarrea por E. coli. K88 y se registraron 4 bajas que pertenecían a los grupos no tratados con el XTRACT™.

TABLA 1.Peso vivo (PV,Kg), consumo medio diario (CMD,g/d), ganancia media diaria (GMD,g/d), índice de conversión (IC,g/g) y bajas registradas de lo lechones durante el periodo del día 0 al día 21 del experimento.

	0		5		RSD	Significación		
	0	300	0	300		AC	XT	INT
PV día 1 exp	8.11	8.17	8.11	8.08	0.224	0.719	0.904	0.719
PV día 21 exp	17.61	17.05	16.87	17.47	0.709	0.655	0.945	0.129
GMD	452.2	423.3	417.0	447.1	28.34	0.696	0.968	0.059
CMD	693.3	645.2	634.2	655.1	50.10	0.346	0.597	0.193
IC	1.53	1.52	1.52	1.47	0.061	0.269	0.341	0.502
BAJAS	2	-	2	-	-	-	-	-

Por lo que se refiere a la digestibilidad ileal y rectal de la materia orgánica (DIMO y DRMO) tampoco se observan diferencias significativas debidas al **XTRACT®** o al acidificante (medias / RSD: DIMO= 61.92 / 7.54, DRMO= 83.72 / 1.80).

TABLA 2. Altura de las vellosidades y profundidad de las criptas en yeyuno proximal (en μm) el día del sacrificio.

	0		5		RSD	Significación		
	0	300	0	300		AC	XT	INT
Villi Heigh	407.3	385.6	329.6	364.6	53.79	0.059	0.786	0.261
Cripth Depth	290.0	298.0	269.3	276.3	34.64	0.213	0.660	0.982

El estudio histológico no mostró diferencias significativas por la inclusión del **XTRACT®**. Sin embargo la inclusión de acidificante tendió a reducir la altura de vellosidades (p=0.059) y redujo numéricamente la profundidad de las criptas lo que podría suponer un menor gasto trófico del epitelio.
El contenido en BP a nivel ileal disminuyó significativamente en los animales tratados con el **XTRACT®** sin verse afectado por el acidificante. Además en estos animales se observó un aumento de los lactobacilos (p=0.074) acompañado numéricamente por la disminución de las enterobacterias (p=0.162). En el caso del recto el contenido en BP fue reducido por la inclusión del acidificante pero no se vio afectado por el **XTRACT®** (tabla 3).

TABLA 3.Contenido total de Bases púricas (BP) y recuentos microbianos (UFC/g MF). (días 39 y 40 del periodo experimental).

	0		5		RSD	Significación		
	0	300	0	300		AC	XT	INT
ILEON	10.7	6.6	11.0	7.1	53.79	0.783	0.010	0.930
RECTO	10.8	11.3	7.1	8.9	34.64	0.026	0.385	0.617
Enterobact.	5.92	5.59	5.78	5.28	0.707	0.430	0.162	0.749
Lactobacillus	7.28	8.69	7.89	7.93	0.946	0.846	0.074	0.090

En conclusión, la adición de **XTRACT®** a piensos de lechones recién destetados modula la población microbiana en el intestino delgado y el ácido fórmico disminuye el grosor de la mucosa y la masa microbiana en el recto. La utilización del **XTRACT®** y ácido fórmico en la misma dieta ejerce un efecto aditivo sobre la estabilidad digestiva de los lechones en transición.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a la empresa AXISS – Pancosma S.A. por el apoyo financiero del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mellor, S.2000. Alternatives to antibiotics. Feed mix, special 2000. 6-8.
Makkar, H.P.S. & Becker, K. 1999. Purine quantification in digesta from ruminants by spectrophotometric and HPLC methods. British Journal of Nutrition 81, 107-112.
Partanen, K.H. & Mroz, Z. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. Nutrition research reviews 12: 117-145.
SAS (1999) User's guide. Version 8.01 SAS Institute, Cary, NC, USA.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 642-644

INFLUENCIA DEL TIPO DE CEREAL Y SU TRATAMIENTO TÉRMICO SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE LECHONES

D. G. Valencia, M. A. Latorre, R. Lázaro, F. Martín y G. G. Mateos
Departamento de Producción Animal, E.T.S.I. Agrónomos, U.P. Madrid

INTRODUCCIÓN

La utilización de cereales tratados es una práctica común en la alimentación de lechones recién destetados por su efecto positivo sobre los índices productivos y la reducción del índice de diarreas (McDonald et al., 1998). De hecho, su uso ha aumentado recientemente en la UE -15 tras las restricciones impuestas al uso de promotores de crecimiento de tipo antibiótico para la prevención de procesos entéricos. El cereal mas común en estas dietas es el maíz, aunque también es frecuente la utilización de cebada y trigo (Medel et al., 2002). El arroz es rico en almidón de fácil digestibilidad, lo que unido a su bajo contenido en polisacáridos no amiláceos le convierte en un cereal de elección en dietas de iniciación (Pluske et al., 1996; Mateos et al., 2001). Sin embargo, su limitada disponibilidad, su alto precio y la escasa información que aporta limitan su uso en piensos para lechones. Por ello se estudió en dos ensayos la influencia de incorporar arroz crudo o cocido en sustitución de maíz sobre la digestibilidad de los nutrientes y la productividad en dietas de iniciación para lechones.

MATERIAL Y METODOS

Se llevaron a cabo dos ensayos con lechones (PxLW x LRxLW) destetados a 21 ± 2 d de edad y 6,0 ± 0,5 kg de peso. En ambos experimentos se utilizaron 240 lechones y la duración de las pruebas fue de 32 y 35 d, respectivamente. Las dietas de experimentales iniciación se suministraron *ad libitum* en forma de harina de 21 a 41 d de vida en el ensayo 1 y de 22 a 48 d en el ensayo 2 y contenían 2.510 kcal de EN/kg y 1,35% de lys digestible (FEDNA, 1999). A continuación se suministró un pienso estárter común a todos los animales con 2.300 kcal de EN/kg y 1,16% de lys digestible (FEDNA, 1999) durante 12 y 8 d en los ensayos 1 y 2, respectivamente.

En el ensayo 1 se estudió la influencia de la utilización de maíz cocido o arroz cocido en la dieta de iniciación sobre la productividad del lechón y la digestibilidad de los nutrientes. Cada tratamiento se replicó 24 veces y la unidad experimental fue un departamento con cinco lechones. Se controlaron pesos y consumos a los 21, 30, 41 y 54 d de vida y se determinó la digestibilidad aparente fecal de los nutrientes a los 27 y 37 d utilizando 0,5% de celite extra en los piensos como marcador indigestible.

En el ensayo 2 se estudio la influencia del cereal (50% de maíz y 50% de arroz) y del procesado del mismo (crudo vs cocido a 100-110 ºC durante 45 minutos aproximadamente y pasado posteriormente por dos rodillos acanalados para fijar el proceso). Cada tratamiento se replicó 12 veces (cinco lechones por réplica). Se controlaron pesos y consumos a los 22, 35, 49 y 58 d de vida y se determinó la digestibilidad aparente fecal de los nutrientes a 34, 44 y 50 d utilizando 0,5% de celite.

Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (1990) para

diseños completamente al azar, incluyendo en el modelo como covariable el peso inicial. En el ensayo 1 el modelo introdujo el tratamiento como efecto principal y se realizó un test *t de student* para separar las medias. En el ensayo 2 se analizaron los efectos principales (cereal y procesado del cereal) y la interacción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el ensayo 1 los lechones que habían consumido arroz cocido durante la fase de iniciación crecieron más rápido (447 vs 418 g/d; $P < 0,01$) y consumieron más pienso (659 vs 623 g/d; $P < 0,01$) de 21 a 54 d de vida que los lechones que habían consumido maíz cocido sin que los índices de conversión se vieran afectados. La mayor parte de las diferencias observadas al final de la prueba se debieron a la mejor productividad de los lechones en la fase de iniciación. En este periodo (21 a 41 d de vida) los animales que recibieron las dietas basadas en arroz tuvieron mejores incrementos de peso (320 vs 285 g/d; $P< 0,05$) y mayores consumos de pienso (452 vs 393 g/d; $P < 0,01$) que los animales que consumieron dietas basadas en maíz. La digestibilidad aparente fecal de la energía bruta, la materia seca y el extracto etéreo aumentó con la edad ($P < 0,01$) y fue superior en todos los casos con las dietas basadas en arroz. En el caso de la proteína bruta la digestibilidad aumentó con la edad ($P < 0,01$) pero no se vio afectada por el tipo de cereal.

En el ensayo 2 los animales que consumieron arroz en la fase de iniciación crecieron más rápido de 21 a 58 d de vida (426 vs 391 g/d; $P < 0,01$) y consumieron más alimento (646 vs 567 g/d; $P < 0,01$) que los animales que consumieron maíz, pero el tratamiento térmico del cereal no afectó a ninguno de los parámetros estudiados. Gran parte de las diferencias observadas en cuanto al tipo de cereal al final de la prueba se obtuvieron en la fase de iniciación (de 22 a 49 d de vida). En este periodo los lechones que recibieron dietas basadas en arroz crecieron más rápido (392 vs 329 g/d; $P < 0,01$) y consumieron más alimento (576 vs 478 g/d; $P < 0,01$) que los que recibieron dietas basadas en maíz. La digestibilidad aparente fecal de la energía bruta y la materia orgánica fue superior en las dietas basadas en arroz que en las dietas basadas en maíz ($P < 0,01$) pero la digestibilidad de la proteína bruta no se vio afectada por el tipo de cereal. El procesado térmico del cereal no influyó de forma significativa sobre la digestibilidad aparente fecal de los nutrientes.

Los resultados obtenidos en ambos ensayos en la fase prestarter coinciden con los de Hongtrakul et al. (1998) quienes observaron que los lechones que recibieron arroz comieron un 6,5% mas de pienso y crecieron un 9,3% mejor que los que recibieron maíz, sin que los índices de conversión se vieran afectados. Asimismo, Mateos et al. (2001) observaron un consumo 8,7% superior y un crecimiento 9,4% más alto en los lechones que comieron arroz que en los lechones que consumieron maíz, sin detectarse diferencias en los índices de conversión. McDonald et al. (2001) compararon los rendimientos productivos en lechones alimentados con cebada cruda o con arroz cocido, observando que los lechones que recibieron arroz crecieron un 14% más que los que recibieron cebada. Un aumento del consumo de pienso a edades tempranas mejora el desarrollo de las vellosidades intestinales y aumenta la producción enzimática (Pluske et al., 1997), lo que resulta en una mejora en la digestibilidad y en la absorción de nutrientes. La razón del mayor consumo de los lechones que recibieron arroz con respecto a los que consumieron maíz no está clara pero podría deberse al bajo contenido en PNA de este cereal (Pluske et al.,

2001), o a la mayor digestibilidad ileal de su almidón (Weurding, 2001; Choct, 2002). Por otra parte, Göranson et al. (1993) y Witte et al. (2000) sugieren que la menor incidencia de procesos entéricos que se observa con arroz en lechones se debe a la presencia de factores antisecretores específicos que protegen a la mucosa intestinal del ataque de las bacterias patógenas favoreciendo así el consumo de nutrientes. Sin embargo, este parámetro no fue determinado en nuestros ensayos

CONCLUSIONES

En ambos ensayos los animales que consumieron dietas basadas en arroz presentaron una mejor digestibilidad aparente fecal de la energía y de la materia orgánica y comieron y crecieron más que los que consumieron dietas basadas en maíz. El tipo de cereal no afectó al índice de conversión alimenticia. El procesamiento térmico de los cereales no afectó de forma significativa los rendimientos productivos en ninguna de las fases estudiadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Choct, M. 2002. Non-starch polysaccharides: Effect on nutritive value. En: McNab, J. M. y Boorman, K. N. (Eds) Poultry Feedstuffs 26, 221-234.

FEDNA, 1999. Normas FEDNA para la formulación de piensos compuestos. C. de Blas, G.G. Mateos y P. G. Rebollar. (Eds). Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, Madrid.

Göranson, L., Marinsson, K., Lange, S. y Lönnroth, I. 1993. J. Vet. Med. 40, 478-484.

Hongtrakul, K., Goodband, R. D., Behnke, K. C., Nelsen, J. L., Tokach, M. D., Berström, J. R., Nessmith Jr. W. B. y Kim, I. H. 1998. J. Anim. Sci. 76, 3034-3042.

Mateos, G. G., Alcantarilla, A., Latorre, M. A., Lázaro, R., Gómez, E. y Laso, N. 2001. J. Anim. Sci. 79, 443 (Abst.).

McDonald, D. E., Pluske, J. R., van Barneveld, R. J., Pethick, D. W., Mullan, B. P. y Hampson, D. J. 1998. Proceedings of the Nutr. Soc. Australia 22, 100-107.

McDonald, D. E., Pethick, D. W., Mullan, B. P., Pluske, J. R. y Hampson, D. J. 2001. Proceeding 8th Symposium on Digestive Physiology in Pigs. Swedish University of Agricultural Science, Uppsala. Suecia.

Medel, P., Baucells, F., Gracia, M. I., DE Blas, C., y Mateos, G. G. 2002. Anim. Feed Sci. Technol. 95, 113-122.

Pluske, J. R., Siba, P. M., Pethick, D. W., Durmic, Z., Mulan, B. P. y Hampson D. J. 1996. J. Nutr. 126, 2920-2933.

Pluske, J. R., Hampson, D. J. y Williams, I. H. 1997. Liv. Prod.. Sci. 51, 215-236.

Pluske, J. R., Kim, J. C., McDonald, D. E., Pethick. D. W. y Hampson, D.J. 2001. En: Varley, M.A. y Wiseman, J. (Eds). Pp 81-112.

SAS Institute, 1990. SAS(User's Guide. Versión 6, SAS Institute, Cary, N.C.

Weurding E. R., Veldman, A., Veen, W. A. G., Van der Aar, P. J. y Verstegen, M. W. A. 2001. J. Nutr. 13, 2329-2335.

Witte, W., Jorsal, S. E., Roth, F. X., Kirchgessner, M., Göransson, L. Lange, S., y Pedersen, K. B. 2000. Pigs News and Inf. 21, 27-32.

EFECTOS DE LA INCLUSIÓN DE ALMIDÓN RESISTENTE EN LA RACIÓN SOBRE LOS FLUJOS CIRCULATORIOS DE GLUCOSA E INSULINA Y LA ACTIVIDAD LIPOGÉNICA EN TEJIDO GRASO Y MUSCULAR DE LOS CERDOS EN CRECIMIENTO

D. Martínez-Puig [1], J.F. Pérez [1], J. Mourot [2] y M. Anguita [1]

[1] *Dept. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193.*

[2] *Institute National de la Recherche Agronomique, Station de recherches porcines, Saint-Gilles 35590, France.*

INTRODUCCIÓN

A diferencia de las aves o los primates en que la lipogénesis es fundamentalmente hepática, el cerdo presenta la actividad lipogénica, mayoritariamente en el tejido adiposo y en menor medida en muscular (Mersmann *et al.*, 1976). Las dietas destinadas al ganado porcino son ricas en cereales, y aportan una cantidad importante de almidón como principal sustrato energético, precursor de la síntesis grasa. En particular, se ha demostrado que la expresión de los enzimas críticos en la biosíntesis de ácidos grasos está controlada directamente por el nivel plasmático de glucosa (Girard *et al.*, 1997) e insulina (Sook Sul *et al.*, 2000). Sin embargo, una fracción del almidón ingerido puede resistir la digestión enzimática y fermentar en tracto digestivo posterior, modificando el perfil de nutrientes absorbidos. El objetivo del presente trabajo ha sido valorar el impacto de la administración de 2 almidones con diferentes contenidos en almidón resistente sobre la actividad lipogénica en los tejidos adiposo y muscular del cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en las granjas experimentales de la UAB. Se utilizaron 12 cerdos machos (Landrace x Large White) con un peso inicial de 26 ± 3.6 Kg., alimentados en restricción (90% ingestión voluntaria) durante 38 días con 2 dietas diferenciadas por el almidón añadido (25%) siendo de maíz (ración M) o de patata (ración P) y en consecuencia por su contenido en almidón resistente (52 y 143 g/Kg, respectivamente). Con un peso vivo de 48 ± 1.2 Kg, 6 de los animales fueron cateterizados, se insertó un catéter en la vena safena para infundir el marcador y otro en la arteria femoral para recoger sangre. Durante la semana de recolección de muestras, se ofrecieron 1098 g/día de la dieta experimental en 2 tomas. El día 7, 1 hora antes de la comida de la mañana se administró una infusión constante (0.48 $\mu mol \cdot Kg^{-1} \cdot min^{-1}$) de 1-^{13}C glucosa (98%) durante 7 horas. Durante todo el periodo de infusión se recogieron muestras de sangre para analizar glucosa, insulina y 1-^{13}C glucosa. Con un peso de 54 ± 1.1 Kg se sacrificó a los animales y se recogieron muestras de tejido adiposo (subcutáneo y abdominal) y muscular (*longissimus dorsi y longissimus thoracis*) para determinar la actividad lipogénica del enzima málico.

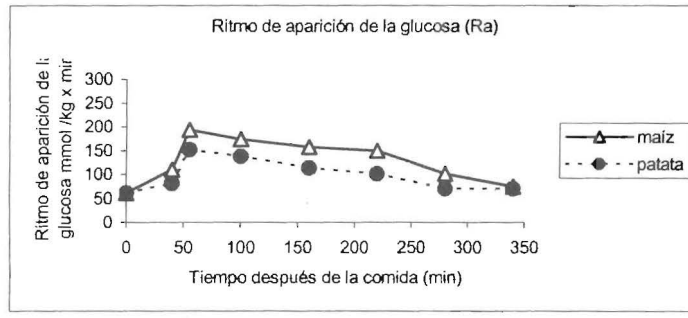
Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento GLM del SAS (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras la ingestión de la comida se observó en ambos tratamientos un incremento de la glucosa plamática desde los niveles basales (4.85 mmol/L), alcanzando su nivel maximo a los 30 minutos en el tratamiento de maíz (5.59 mmol/L) y a los 45 minutos en el de patata (5.39 mmol/L). El area debajo de la curva (ADC) de la glicemia plasmática durante el periodo registrado fue cuantitativamente superior

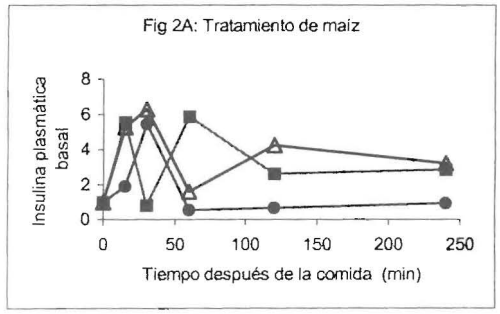
para el tratamiento de maíz que el de patata (93.26 *vs.* 52.99, P=0.1729), aunque las diferencias no alcanzaron significancia estadística. Diferencias en la concentración plasmática de glucosa se asociaron a diferencias en el ritmo de aparición de la glucosa plasmática entre los 0 y 340 minutos después de la ingestión de alimento (Figura 1). Asimismo el ADC fue cuantitativamente superior para el tratamiento de maíz que el de patata (23.46 *vs.* 15.43 mmol $\cdot Kg^{-1}$ / min $^{-1}$, P=0.2298) debido probablemente a la mayor digestibilidad ileal del almidón que fue de 96.95 y 75.58% para los tratamientos de maíz y patata respectivamente (Martínez-Puig *et al.*, 2003).

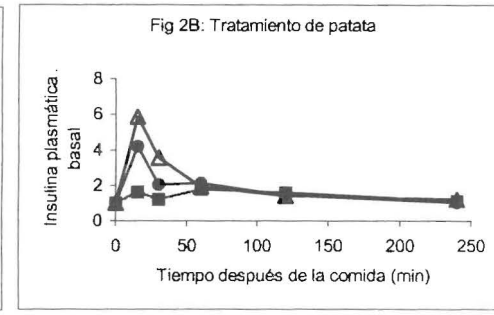
Figura 1 – Evolución media del flujo de entrada en plasma de la glucosa postpandrial de cerdos en crecimiento tras la administración de una ración con un 25% de almidón de maíz (ración M) o de patata (ración P). (n=3)



Las diferencias en el flujo de glucosa plasmática provocaron variaciones en los niveles de insulina plasmática y en particular en su patrón de liberación. El ADC expresado en multiples de la concentración basal fue superior para el tratamiento de maíz que el de patata (453.61 *vs.* 209.68 µU/mL, P= 0.2507).
Tal y como se observa en la figura 2, todos los animales alimentados con la ración P presentaron un solo pico de insulina 15 minutos después de la ingestión, mientras que con la ración M se produjeron en 2 de los animales, 2 descargas de insulina, lo cual refleja la persistencia del mayor flujo de glucosa observado.

Figura 2 – Curvas de la insulina plasmática postpandrial desde tiempo 0 a 240 min. de cerdos en crecimiento tras la administración de una ración con un 25% de almidón de maíz (ración M, Fig. 2A) o de patata (ración P, Fig. 2B).





Las diferencias descritas en la disponibilidad de glucosa plasmática en las dietas P y M promovieron cambios en la actividad lipogénica del enzima málico en los tejidos grasos subcutáneo (4.22 *vs.* 2.46) y abdominal (4.04 *vs.* 1.88 NADPH · min $^{-1}$ ·g $^{-1}$ proteína, respectivamente) (Tabla 1). En el mismo sentido el espesor de la grasa dorsal fue superior en el tratamiento M respecto al P (10 *vs.* 8,2 mm; P=0.06). Sin embargo, no se detectaron diferencias ni en la actividad lipogénica de los músculos estudiados ni en su contenido lipídico (Tabla 1). En conclusión, los resultados reflejan diferencias cuantitativamente apreciables en el índice glicémico y descarga de insulina de las 2 raciones estudiadas, aunque el reducido número de animales utilizado en el experimento condicionó su significancia estadística. Estas diferencias fueron suficientes para modificar la actividad lipogénica de los tejidos adiposos tanto a nivel subcutáneo como abdominal, pero no en los tejidos musculares, en los cuales la regulación de la expresión de los enzimas lipogénicos parece ser menos dependiente de las variaciones nutricionales.

Tabla 1 – Actividad del enzima málico determinada en tejido adiposo (mmol NADPH min-1 g-1 proteina) y muscular (mmol NADPH min-1 g-1MF) y contenido en grasa de los músculos *longissimus dorsi y longissimus thoracis* de cerdos en crecimiento tras la administración de una ración con un 25% de almidón de maíz (ración M) o de patata (ración P). (n=12)

	Ración M	Ración P	SEM	Probabilidad
Tejido graso				
Subcutaneo	4,22	2,46	0,359	<0,01
Abdominal	4,04	1,88	0,548	<0,05
Tejido muscular				
Longissimus thoracis	2,73	2,77	0,205	N.S.
Longissimus dorsi	1,43	1,46	0,205	N.S.
Contenido en grasa (g/KG MS)				
Longissimus thoracis	1,98	1,61	0,280	N.S.
Longissimus dorsi	0,68	0,68	0,125	N.S.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Girard, J., Ferré, P. y Foufelle, F. (1997). *Annual Reviews of Nutrition*, 17: 325-352.

Martínez-Puig, D., Pérez, J.F., Castillo, M., Andaluz, A., Anguita, M., Morales, J y Gasa J. (2003) *Journal of Nutrition.* 133: 134-139.

Mersmann, H. J., Allen, C.D., Steffen, D.G., Brown, L.G. y Danielson, D.M. (1976). *Journal of Animal Science*, 43: 140-150.

SAS Institute, Inc. (1999). Version 8.1. SAS Institute, Cary, NC.

Sook Sul, H., Latasa, M.J., Moon, Y. y Kee-Hong K. (2000). 130: 315S-320S.

APLICACIÓN DE LA PCR A TIEMPO REAL EN LA CUANTIFICACIÓN DE BACTERIAS EN YEYUNO DISTAL EN LECHONES EN TRANSICIÓN

Castillo, M.[1]; Martín-Orúe, S.M.[1]; Badiola, I[3].; Martín, M.[2]; Manzanilla, E.G[1].
(1)Departament de Ciència Animal i dels Aliments. (2) Departament de Sanitat i Anatomia. Universitat Autònoma de Barcelona. (3) Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA). 08193 Bellaterra. Barcelona

INTRODUCCIÓN

La reciente prohibición del uso de antibióticos como promotores del crecimiento ha generado un especial interés en el estudio de los efectos de la dieta sobre la microflora y la salud intestinal. En el estudio de la ecología intestinal, el uso de técnicas microbiológicas tradicionales es en ocasiones complicado debido a la laboriosidad de dichos métodos y a la necesidad de analizar las muestras en pocas horas tras el muestreo.

El desarrollo en los últimos años de la PCR cuantitativa a tiempo real aparece como una posible alternativa a los métodos tradicionales debido a la rapidez en la obtención de resultados y a la posibilidad de la conservación de las muestras.

No hemos encontrado trabajos que evalúen la utilidad de esta técnica en muestras de contenido digestivo. Por ello el objetivo de este experimento fue la comparación de resultados obtenidos mediante PCR cuantitativo con otro método utilizado para la cuantificación del total de la población microbiana como la técnica de tinción por DAPI.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental: se utilizaron 32 lechones cruzados (Landrace x Large White) x Pietrain recién destetados (20 ± 2 dias) con un peso inicial de 6,0 ± 0,4 kg seleccionados de un total de 200.

Se utilizó un diseño en bloques al azar para comparar 4 tratamientos (control, CTRL; acidificante (Gustor®), ACID; antibiótico (Maxus®), ATB y un aditivo comercial a base de extractos de plantas, Xtract®). Dichos aditivos se añadieron a una dieta pre-estarter comercial (60% cereales, 20% productos lácteos, 8% soja y 5% pescado LT) en las siguientes concentraciones: ACID: 3kg/tm, ATB: 0,4 kg/tm y Xtract® 300 ppm. Todas las dietas fueron subministrados *ad libitum*. Tras el sacrificio a los 42 días de vida, se extrajo el tracto gastrointestinal y se recogió contenido de yeyuno distal de cada uno de los animales. Para la tinción con DAPI las muestras (1g MF) se conservaron en formaldehido y para la PCR se diluyó 1 g MF con 3 ml de etanol 96 %.

Tinción DAPI: los contajes totales se determinaron tras la filtración por membrana y tinción con 4', 6 diamindino-2-fenilindol (DAPI) (Porter y Feig 1980).

PCR cuantitativo: tras la centrifugación de 2 ml de la suspensión etanólica de las muestras (5 min. 13.000 x g) se procedió a la extracción y purificación del DNA del precipitado mediante el kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Se amplificó un fragmento de 315 pares de bases del gen de la subunidad 16S del ribosoma bacteriano utilizando el sistema SyBr Green (cuantifica la cantidad total de

DNA bicatenario amplificado). Se utilizaron los *primers* (F-tot GCAGGCCTAACACATGCAAGTC y R-tot CTGCTGCCTCCCGTAGGAGT) adaptados de Marchesi et al. (1998) y Amann et al. (1995) para adecuarlos a las condiciones necesarias a su uso con SyBr Green, utilizando el Software Primer Express de Applied Biosystems.

La amplificación se llevó a cabo con ABI 7900 HT Sequence Detection System (Perkin Elmer) utilizando el SyBr Green Core kit en un volumen final de 25 µl. Se emplearon para cada reacción: 2,5 µl de buffer SyBr Green 10x, 3 µl de $MgCl_2$ (25 mM), 2 µl dNTPs (2,5 mM), 0,25 µl amperasa (AmpErase UNG® 1 U /µl), 0,125 µl de AmpliTaq Gold® (5 U/µl),1 µl primer forward (12,5 µM), 1 µl primer reverse (12,5 µM), 2 µl DNA (dilución 1/10). Las condiciones de la amplificación fueron 2 min. 50°C, 10 min. 95°C seguido de 40 ciclos de 15 seg. 95°C y 1 min. 60°C. La especificidad del producto amplificado se evaluó mediante el análisis de curvas de disociación una vez finalizada la reacción de PCR.

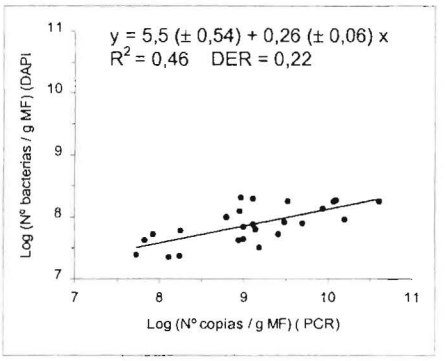
Para el calibrado se utilizaron como estándares concentraciones conocidas del gen completo del 16S rRNA obtenido mediante PCR a partir de cultivos puros de *Escherichia coli* (CECT cepa: 515NT). Se incluyeron patrones con 10, 10^2, 10^3, 10^4 y 10^5 copias por reacción.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante el procedimiento GLM y REG de SAS (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La especifidad de los *primers* se comprobó constatando la ausencia de amplificación con DNA extraído de plasma porcino. El producto obtenido no fue superior (289 ± 79.5) al detectado en las muestras control a las que no se añadió DNA (239 ± 54,3 copias/reacción). Valores similares de amplificación en la muestras control han sido descritos por otros autores (Suzuki et al., 2000; Nadkarni et al., 2002) y son atribuibles a la presencia DNA residual de E. coli en los reactivos utilizados para la amplificación. La ausencia de sustancias inhibidoras en el DNA extraido se evaluó testando diferentes diluciones de algunas de las muestras. Para diluciones de 1/10, 1/100 y 1/1000 los resultados fueron de $2{,}6x10^4$, $2{,}0x10^3$ y $3{,}6x10^2$ copias/reacción respectivamente.

Figura 1. Regresión entre tinción DAPI (bacterias/g MF) y PCR (copias 16S rDNA/gr MF).



El valor medio de la tinción DAPI fue de 7,8 (DER 0,37) log bact./g MF y el de PCR de 9,2 (DER 0,78) log copias/g MF. Diferencias de dos órdenes de magnitud han sido descritas por otros autores comparando resultados entre PCR y contajes tradicionales (Bach et al., 2002, Nadkarni et al., 2002). Esta diferencia podría explicarse, al menos en parte, por la multiplicidad de copias del gen 16S rDNA por célula bacteriana que, aunque variable, se sitúa entre 1-10 (Fogel et al., 1999). En la Fig. 1 se muestra relación existente entre el número de bacterias/g MF contabilizadas por la tinción DAPI (log10) y el de copias/g MF determinado mediante PCR (log10). Ambos parámetros mostraron una relación significativa ($p < 0,001$) con un coeficiente de regresión r^2 de 0,46. El rango de distribución de los valores fue superior con PCR (7,7 a 10,6 log copias/g MF) que con DAPI (7,0 a 8,3 log bact./g MF).

Por otra parte no se detectaron diferencias en los recuentos totales entre los diferentes tratamientos con ninguno de los dos métodos (Tabla 1).

	CTRL	ACID	XTRACT	ATB	RSD	SIGNIFICACIÓN
DAPI	7.88	7.59	7.85	7.80	0,366	NS
PCR	9.43	9.25	9.04	8.89	0,775	NS

Tabla 1. Valores medios (log10) obtenidos mediante DAPI (nºde bacterias/ml contenido intestinal) y PCR (nº de copias del gen 16S/g MF contenido intestinal) (NS: P>0.1)

De estos resultados podemos concluir que la cuantificación del total de bacterias en el contenido yeyunal mediante PCR mostró una correlación significativa con el contaje por DAPI y el mayor rango de distribución de los valores con la técnica PCR indicaría una mayor sensibilidad en la detección de diferencias en el crecimiento microbiano intestinal.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto CYCIT AGL01-2621-C02-01

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amann R. , Ludwig W. Schleifer K. H. (1995). Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cell without cultivation. *Microbiological Reviews*. 59, 143-169.

Bach H. J., Tomanova J., Schloter M., Munch, J. C. (2002). Enumeration of total bacteria and bacteria with genes for proteolytic activity in pure cultures and in environmental samples by quantitative PCR mediated amplification. *Journal of Microbiological Methods*, 49, 235-245.

Fogel G. B., Collins C. R., Li J., et al. (1999). Prokaryotic Genome Size and SSU rDNA Copy Number: Estimation of Microbial Relative Abundance from a Mixed Population. *Microbial Ecology*, 38, 93-113.

Marchesi R. J., Takuichi S., Weightman A. J., et al. (1998). Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers That Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (2), 795-799.

Nadkarni M. A. , Martin F. E., Jacques N. A., Hunter N. (2002). Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiology*, 148, 257-266.

Porter K. G., Feig Y. S. (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*. 25, 943-948

SAS Institute Inc. (1999) Version 8.1, Cary N.C.

Suzuki M. T., Taylor L. T., DeLong E. F. (2000). Quantitative Analysis of Small-Subunit rRNA Genes in Mixed Populations via 5'-Nuclease Assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, nº 11, 4605-4614.

EFECTO DEL NIVEL Y DEL TAMAÑO DE LA FIBRA SOBRE LA DIGESTIÓN DE GAZAPOS DESTETADOS PRECOZMENTE.

García J., Palacín, N. Nicodemus N. Carabaño R. y De Blas C.
Departamento de Producción Animal. E.T.S.I.Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

El nivel y el tipo de fibra y el tamaño de partícula han sido los factores de la dieta más relacionados con el crecimiento bacteriano a través de su relación con la velocidad de tránsito digestivo y con su disponibilidad como substrato energético (de Blas et al, 1999). Dietas con altos niveles de fibra, fibra lignificada o tamaños de partícula largo dan lugar a bajos tiempos de retención, menor digestión de la fibra y descensos en el crecimiento bacteriano (García et al., 2000; 2002). Debido a su efecto modulador del crecimiento bacteriano y de las condiciones del medio de fermentación (pH, producción de AGV y amoniaco) variaciones en éstos factores se han relacionado con disbiosis bacterianas que pueden provocar problemas digestivos en las semanas posteriores al destete. La necesidades de fibra (nivel, tipo y tamaño de partícula) han sido caracterizadas para el conjunto del cebo (De Blas et al., 1999). Los trabajos realizados recientemente con gazapos destetados precozmente (25 días) indican que las necesidades de fibra para estos animales podrían se distintas que en animales de mayor edad (Gutiérrez et al., 2002). El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto del nivel y del tamaño de partícula de la fuente de fibra sobre la digestibilidad fecal y los parámetros de fermentación en ciego.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se formularon 4 dietas donde se varió el nivel de fibra y el tamaño de la fibra de acuerdo a un diseño factorial (2x2). Se utilizaron dos niveles de fibra: 30 y 25% FND, correspondiendo el primero al nivel óptimo definido por Gutiérrez et al (2002). El tamaño de partícula se modificó moliendo una mezcla formada por un 30% de paja y un 70% de heno de alfalfa con un tamaño de partícula superior al comercial. Las inclusión de esta mezcla molida a 9 mm constituyó el tamaño de fibra largo. Para conseguir un tamaño de partícula comercial se molió a 1 mm y por separado el heno de alfalfa y la paja (cuatro y tres veces, respectivamente) y posteriormente se mezcló en las proporciones indicadas y se pasó a la mezcladora junto con el resto de los componentes de la dieta. Para que las dietas fueran isoenergéticas, a las dietas con el 30% de FND se les añadió un 4% de manteca. Las dietas con un 25% FND se diluyeron con harina de trigo para no modificar el tipo de fibra. El resto de los componentes de la dieta se mantuvieron iguales. La composición de las dietas se muestra en la Tabla1.

Todos los gazapos utilizados fueron destetados a los 25 días y procedían de una nave maternidad donde los gazapos habían empezado a consumir el pienso experimental. Para el ensayo de digestibilidad fecal se utilizaron un total de 40 gazapos (10 por tratamiento) a los que se les controló el consumo de pienso y la excreción de heces de los 35 a los 39 días de edad. Al finalizar la prueba se sacrificaron a las 19.00 horas y se controló el peso del aparato digestivo, el estómago y el ciego lleno y vacío y el pH del contenido cecal. Se tomaron muestras del contenido cecal para realizar análisis de AGV y N- NH3 . Además se sacrificaron otros 40 gazapos, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente, a los que sólo se les controló el peso de los órganos y el pH cecal. A todos los animales se les controló el peso inicial y final y el consumo de pienso desde los 25 a los 39 días.

En las muestras de pienso y heces se analizó su contenido en MS, PB (AOAC,1990), EE con hidrólisis previa y EB con bomba calorimétrica. Sobre una muestra de pienso se analizaron su contenidos en FND, FAD y LAD de manera secuencial (Van Soest et al., 1991). El tamaño de partícula del pienso se determinó siguiendo el procedimiento descrito por García et al. (2000). Los ácidos grasos volátiles se analizaron por cromatografía de gases.

Se realizó un análisis de varianza factorial utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1990). Los efectos considerados fueron el nivel de fibra, el grado de molienda (larga o normal) y su interacción. El peso inicial fue utilizado como covariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestra el efecto de nivel y el tamaño de molienda sobre los parámetros estudiados. El nivel de fibra afectó ($P < 0.05$) al peso del contenido del estómago y del ciego, al peso del ciego vacío y a la concentración total de AGV. Los animales que consumieron los piensos con un menor contenido en fibra presentaron un menor peso del contenido del estómago (3.99 vs 4.78 % PV), un mayor peso del contenido cecal (6.96 vs 5.8 %PV) y del ciego (1.79 vs 1.59 % PV) y una menor concentración de AGV (56.6 vs 65.2 mmol/l). El grado de molienda de la fibra sólo afectó ($P < 0.05$) al peso del contenido cecal que se incrementó a mayor grado de molienda (6.7 vs 6.01% PV). En este parámetro se observó una interacción ($P = 0.011$) debido a que este efecto sólo se observó en el nivel menor de fibra (26% de incremento). Estos resultados coinciden con los obtenidos por García et al (2002) en los que se observa que el nivel de fibra es el principal factor de la dieta que explica los cambios observados en los parámetros de fermentación cecal como AGV o tiempo medio de retención. En el presente trabajo no se midió la velocidad de tránsito pero el peso del contenido cecal se ha relacionado positivamente con el tiempo medio de retención (García et al., 2000). Un mayor peso del contenido cecal, como se observa en la dietas con menor contenido en fibra indicaría un mayor tiempo de retención que podría explicar en parte las menores ingestiones observadas para estos piensos (81.3 vs 91.6 g/ día; $P = 0.003$). El tamaño de partícula es otro factor que condiciona el tiempo medio de retención, la digestibilidad de la fibra y la ingestión (Nicodemus et al.,1997; García et al., 2000). En nuestro trabajo también se observa el mismo efecto, aunque éste parece estar condicionado al nivel de fibra. Esta interacción podría explicarse si consideramos el total de partículas largas del pienso. Sólo el pienso con menor nivel de fibra y mayor grado de molienda tiene un nivel de partículas largas inferior a las recomendaciones en animales en crecimiento (19.8 vs 22%). En contra de lo que se esperaba, en nuestro trabajo no se observó ningún efecto del tamaño de partícula sobre el consumo. El escaso número datos impide obtener conclusiones claras al respecto.

El nivel de fibra afectó ($P < 0.05$) negativamente a la digestibilidad de la MS, EB y PB. El grado de molienda sólo afectó a la digestibilidad de la PB en el nivel más alto de fibra. Este efecto podría estar relacionado con una menor disponibilidad de la proteína de la alfalfa cuando se muele más groseramente. Los animales alimentados con las dietas con un bajo contenido en fibra mostraron menores consumos de MS y de energía digestible (252 vs 278 kcal/d) lo que explicaría las menores velocidades de crecimiento observadas para estos animales.

REFERENCIAS

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis (14th Ed).Association Official Analytical Chemists (Ed), Arlington, VA.

De Blas C, García J. Carabaño R., 1999. Ann. Zootech., 48, 3-13.

García J., Carabaño R., Pérez Alba L., de Blas C., 2000. J. Anim. Sci., 78,638-646.

García J., Gidenne T., Falcao L. De Blas C., 2002. Anim Res. 51,165-173.

Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., de Blas C., J. Anim. Sci., 80,1029-1037.

Nicodemus N., García J., Carabaño R., Méndez J., de Blas C., 1997. ITEA., 18, 181-183.

SAS. 1990. SAS/STAT® User's Guide (Version 6, Fourth Edition). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597.

Tabla 1. Composición química de los piensos experimentales.

	30% FND		25% FND	
	Fibra larga	Fibra normal	Fibra larga	Fibra normal
Composición química, % MS				
FND	33.2	34.0	26.8	27.8
Almidón	22.6	21.7	33.2	34.0
PB	16.8	16.9	16.7	16.6
EE	6.08	6.28	2.00	2.10
EB, kcal/kg MS	4467	4495	4223	4224
% partículas > 0.3 mm	35.1	24.4	24.4	19.8

Tabla 2. Efecto del nivel de fibra y del tamaño de partícula sobre la digestión de gazapos destetados precozmente (25 d).

	30% FND		25% FND					
	TP LARGO	TP NORMAL	TP LARGO	TP NORMAL	SEM	P_{NF}	P_{TP}	P_{NF*TP}
N	20	20	20	20				
PV 25 d, g	524	464	445	481	20.7	0.14	0.57	0.024
PV 39 d, g	1258	1151	1056	1086	34.2	0.001	0.29	0.049
CMD 35-39, g MS/d[1]	92.0	91.1	80.8	81.8	3.13	0.003	0.99	0.77
GMD 35-39, g MS/d[1]	46.9	47.6	44.3	43.4	1.5	0.033	0.94	0.63
PAD, % PV	22.7	23.2	23.2	23.9	0.74	0.24	0.29	0.88
PCE, % PV	4.82	4.73	4.21	3.77	0.26	0.001	0.19	0.38
PEV, % PV	1.44	1.54	1.43	1.43	0.054	0.16	0.22	0.19
PCC, % PV	5.86	5.75	6.16	7.76	0.16	0.0007	0.02	0.011
PCV, % PV	1.57	1.61	1.78	1.80	0.096	0.007	0.71	0.92
PH ciego	5.72	5.77	5.87	5.79	0.081	0.14	0.81	0.31
N	10	10	10	10				
AGV, mmol/l	66.7	63.7	57.6	55.9	2.48	0.0018	0.36	0.79
Acético, %	81.1	79.0	76.8	79.2	1.80	0.27	0.93	0.23
Propiónico, %	7.14	5.60	7.94	6.76	1.24	0.44	0.29	0.89
Butírico, %	10.6	13.3	11.8	11.8	0.88	0.83	0.14	0.13
I-butírico, %	0.021	0.051	0.26	0.019	0.099	0.31	0.30	0.19
Valérico, %	0.69	1.26	1.82	1.35	0.48	0.22	0.92	0.30
I-valérico, %	0.45	0.79	1.41	0.92	0.35	0.14	0.83	0.26
$N\text{-}NH_3$, mmol/l	4.60	4.73	5.79	4.41	0.67	0.55	0.39	0.30
CDMS %	66.4	67.5	73.5	74.3	0.77	0.001	0.23	0.83
CDE %	67.3	68.5	73.2	73.8	0.77	0.001	0.27	0.71
ED, kcal/kg MS	3007	3078	3092	3117	33.2	0.075	0.16	0.50
CDPB	81.4	83.3	85.8	84.5	0.71	0.0005	0.66	0.048

[1] Medias corregidas por el peso a 25 días

RECICLAJE DE PROTEÍNA EN CONEJOS: INCORPORACIÓN DE LISINA MICROBIANA EN ANIMALES EN CRECIMIENTO COMO MÉTODO DE MEDIDA

Belenguer[1], A., Balcells[1], J., Lopez[1], C., Abecia[1], L. y Decoux[2], M
[1]Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177. Zaragoza 50013.
[2]Cargill, Passeig Sant Joan 193. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Los herbívoros no poseen los enzimas necesarios para digerir los hidratos de carbono estructurales que componen la fibra, ésta únicamente puede ser utilizada parcialmente merced a ciertas poblaciones simbióticas de microorganismos que se alojan en el tracto digestivo. En los compartimentos de fermentación (rumen o ciego-colon) se produce un crecimiento de microorganismos que constituyen, a su vez, en el caso de los rumiantes, el mayor aporte digestivo de proteína. Sin embargo, cuando se trata de fermentadores ceco-colónicos esta proteína es desperdiciada con las heces. Los lagomorfos han desarrollado mecanismos de adaptación para aprovechar estos nutrientes: la cecotrofagia. Este mecanismo combina una retención selectiva de fluidos y pequeñas partículas en el ciego con cierta forma de coprofagia y les permite reciclar gran parte de la proteína microbiana sintetizada en el ciego. La cuantificación de este proceso es uno de los puntos más inciertos en los sistemas de alimentación del conejo.

La lisina, como aminoácido esencial, puede ser únicamente sintetizado por las bacterias cecales y por tanto el marcaje isotópico de este aminoácido puede constituir una herramienta de extraordinaria utilidad para determinar el origen de la lisina en los tejidos y en último termino conocer los niveles de ingestión de ambos componentes, lisina dietética *versus* lisina microbiana, como de hecho se ha realizado previamente en ratas (Torrallardona *et al.*,1996). En este trabajo se pretende establecer la cantidad de lisina ingerida por medio de la cecotrofia en conejos en crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 conejos de raza blanco Neozelandés, con un peso inicial de 1.127±0.0395 y una edad aproximada de 45 días, mantenidos individualmente durante el periodo de adaptación y posteriormente en jaulas metabólicas, siempre con un ciclo nictemeral 12:12 y libre acceso al agua de bebida. La dieta base se formuló en base a heno gramíneas (35 %), cebada (25 %), pulpa de remolacha (20 %), soja (15.5 %) y aceite de girasol, suplementada o no con $^{15}NH_4Cl$ (1 %). La alimentación se restringió a 100 g MF/d, distribuidos una vez al día alrededor de las 9 de la mañana. Se diseñaron tres tratamientos experimentales distintos, de 35 días de duración cada uno, dedicando en todos ellos los 5 primeros días a la adaptación a la dieta. El primer grupo (T1, 6 animales) recibió la dieta con isótopo durante todo el periodo experimental. Este grupo de animales fue sometido cada 5 días (12 h) a la fijación de collar para comprobar el enriquecimiento de la flora cecal en el transcurso del experimento. El segundo grupo (T2; 6 animales) fue alimentado con la ración base durante 25 días para ser cambiados durante los últimos 10 días a la ración con isótopo, al mismo tiempo que se les fijó el collar cervical para impedir la cecotrofia. El tercer grupo (T3; 4 animales) o grupo control recibió sólo la ración base. En todos los casos, los 5 últimos días del periodo experimental se realizó un balance de digestibilidad. Finalmente los animales fueron sacrificados por dislocación cervical, y se tomaron muestras de contenido cecal, para la extracción de bacterias y se

muestrearon los tejidos, que fueron inmediatamente congelados. La concentración de aminoácidos de los diferentes sustratos fue determinada por HPLC, utilizando el método Pico-Tag (Cohen et al, 1989). La lisina fue aislada por cromatografía de intercambio iónico, y posteriormente su enriquecimiento en ^{15}N determinado por IRMS. La contribución de la lisina microbiana absorbida (Mlys) a la lisina total absorbida fue estimada mediante la siguiente ecuación:

$$Mlys = [E_T - E_{T0}] - [E_d - E_0] / [E_b - E_{b0}] - [E_d - E_0],$$

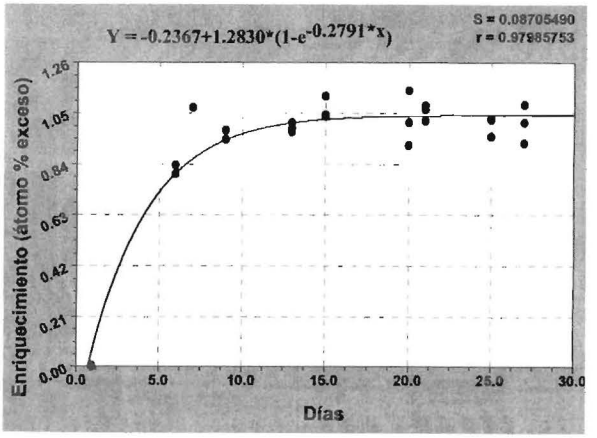
Siendo E_T el enriquecimiento de la lisina tisular en los animales del grupo 1, E_d y E_b los enriquecimientos de la dieta y bacterias respectivamente. E_0 se refiere al enriquecimiento basal de los animales del grupo control.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Enriquecimiento de la lisina en los diferentes sustratos

En la figura 1 se presenta la evolución del enriquecimiento en ^{15}N de las bacterias cecales aisladas por centrifugación diferencial. Ello implica que el amonio del $^{15}NH_4Cl$ fue absorbido, conjugado a urea y que esta una vez marcada constituyó la fuente de N mayoritaria para los microorganismos del rumen confirmando los resultados previos obtenidos por Forsythe y Parker (1985).

Figura 1. Evolución del enriquecimiento del nitrógeno total (átomo % exceso) en las bacterias cecales de los animales que recibieron la dieta suplementada con el isótopo durante 30 días



Con relación a la cinética observada, a los 10 días de administración del isótopo el enriquecimiento del N microbiano había alcanzado prácticamente una situación estable y ello implicaría que 30 días fueron mas que suficientes para que el isótopo estuviese equilibrado en los diferentes compartimentos y con ello que el enriquecimiento determinado en los diferentes tejidos respondería únicamente al aporte de los dos componentes de la lisina, la ración y la proteína microbiana

El enriquecimiento del N en la lisina de los animales del grupo 3 no difirió del enriquecimiento natural (AIEA, 0.366 %) y fue considerado el enriquecimiento basal para este particular sustrato, asumiendo la posibilidad de que en algunos procesos metabólicos el átomo y su isótopo puedan ser discriminados. Aquellos conejos que

habían ingerido el isótopo únicamente los diez últimos días del periodo experimental, pero en este caso evitando la cecotrofagia mediante la fijación del collar cervical, no mostraron ningún tipo de enriquecimiento en los tejidos mientras si lo mostraron en las bacterias cecales. Estos resultados demuestran fehacientemente la escasa o nula capacidad de absorción de proteína o sus derivados en el intestino grueso de los animales monogástricos herbívoros donde tienen lugar la mayor parte de los procesos fermentativos (Schmitz *et al.,* 1991). Aquellos animales que ingirieron la ración complementada con el isótopo mostraron un enriquecimiento en su flora cecal muy similar a la detectada en el grupo 2, de la que no difirió estadísticamente. Sin embargo, en este caso el enriquecimiento de los tejidos fue mayor al enriquecimiento natural y no difirió entre hígado y músculo como tejidos a estudio. El hecho de que el enriquecimiento del hígado y del músculo fueran idénticos implica que la lisina y el isótopo habían alcanzado el equilibrio en el "pool" de nitrógeno del animal. En este sentido es sabida la mayor capacidad del hígado, metabólicamente mas activo, de incorporar con mayor rapidez que el músculo las diferentes sustancias a estudio. No obstante, el resultado más importante es que el enriquecimiento determinado en los tejidos alcanzó niveles de enriquecimiento del 50 % de los valores determinados en las bacterias. Efectivamente la lisina microbiana fue incorporada en los tejidos y su importancia (+50%) estaría en el rango superior de aquellos autores que han determinado la producción de cecotrofos con otros procedimientos metodológicos, entre los que destacan la colocación del collar con la consiguiente recolección de cecotrofos. En cualquier caso nuestros resultados confirman la importancia del ciego del conejo como compartimento de fermentación susceptible, además, de ser manipulado para optimizar dicha potencialidad.

Tabla 1.- Enriquecimiento isotópico (E, % átomos en exceso) registrado en las bacterias cecales, en los tejidos así como la contribución microbiana a la lisina de los tejidos.

	E BACTERIAS	E TEJIDOS	CONTRIBUCIÓN LISINA MICROBIANA
Grupo 1	0.211±0.0097	0.109±0.0097	0.4974±0.04519
Grupo 2	0.221±0.0335	0.017±0.0026	
Grupo 3	0.000±0.0030	0.000±0.0022	

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por Cargill S.L. Paseig Sant Joan, 189. 08037 Barcelona. Proyecto PTR 95/0405-OP. Se agradece también la colaboración de R. Redondo del Laboratorio de isótopos estables en la Facultad de Ciencias de la UAM.

REFERENCIAS

Cohen, S.A., Meys, M. & Tarvin, T.L. (1989). Millipore Corporation, Bedford, Massachusetts, USA.

Forsythe, S.J. y Parker, D.S. (1985).. British Journal of Nutrition 54, 285-292.

Schmitz, M., Ahrens, F., Schön, J. & Hagemeister, H. (1991). In Digestive Physiology in Pigs. Proccedings of the Vth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, pp 85-87 [M.W.A. Verstegen, J. Huisman and L.A. den Hartog, editors]. Wageningen: Pudoc.

Torrallardona, D., Ian Harris, C., Coates, M.E. & Fuller, M.F. (1996). British Journal of Nutrition 76, 689-700.

EFECTO DE LA CECOTROFIA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA DIGESTA Y SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL

Merino J.M. y Carabaño R.
Departamento de Producción Animal. E.T.S.I.Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

El estudio de la digestión en los distintos tramos del aparato digestivo es imprescible para obtener una adecuada valoración del aporte de nutrientes para el animal y para entender la relaciones entre nutrición y crecimiento bacteriano. En el caso del conejo estos balances se realizan utilizando animales canulados en íleon terminal. Al contrario de los balances a nivel fecal, la digestibilidad ileal se determina mediante la estimación del flujo de nutrientes con muestras puntuales de la digesta a lo largo del día. Asegurar la representatividad de las muestras es esencial para obtener un balance diario correcto. Mediante ensayos con sacrificios (Catala, 1976 y Gidenne y Poncet, 1985) se ha observado que la composición de la digesta ileal cambia de manera importante durante las horas de la mañana respecto a las horas de la tarde. Estos cambios en composición coinciden con las variaciones en el consumo de pienso y cecotrofos (Carabaño y Merino,1996) y son especialmente importantes en el caso de la proteína. Sin embargo, Gidenne et al. (1988), utilizando animales canulados no llegaron a detectar diferencias a lo largo del día. El objetivo del presente trabajo es estudiar la variaciones en composición química de la digesta ileal en animales canulados puediendo o no practicar la cecotrofia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 5 animales adultos (2,8 ± 0,34 kg) de raza Neozelandés Blanco x Californiano canulados en íleon terminal siguiendo la metodología descrita por Gidenne et al. (1988). Tras la recuperación de la cirugía los animales fueron alojados en jaulas metabólicas y se les suministró un pienso de cebo que consumieron *ad libitum* durante toda la fase experimental. El pienso estuvo compuesto por cebada (37%), torta de soja (12%), heno de alfalfa (49%), corrector vitamínico mineral, sal y carbonato cálcico (2%). Un 0,1% de fibra del heno alfalfa se marcó con dicromato potásico. La composición química analizada fue 17,81% MS PB , 36,2% MS FND, 3,92% MS LAD y 0,77 mg/Kg MS. Después de 30 días de adaptación a la dieta se realizó la determinación de la producción de cecotrofos mediante la colocación de un collar durante 24 horas. Esta determinación se repitió 3 días más tarde. Después de 4 días de recuperación se procedió a las recogidas ileales. Se realizó una recogida ileal diaria de 1 hora de duración durante 8 días consecutivos. Las recogidas ileales se realizaron a las 9.00, 12.00, 15.00, 18.00, 21,00, 24.00, 3.00 y 6,00 horas. Para el estudio del efecto de la cecotrofia a los animales se les colocó un collar tres días después de finalizada la prueba anterior. El collar se mantuvo durante toda la prueba. Después de tres días de adaptación al collar se procedió a realizar las recogidas ileales del mismo modo que se describió anteriormente. Las muestras ileales y de cecotrofos se almacenaron a –20ºC hasta su análisis. Las muestras ileales y de cecotrofos se liofilizaron y se analizó su contenido en MS, PB (AOAC,1990) y Cromo por espectrofotometría de absorción atómica. Sobre una muestra de pienso se realizaron las mismas determinaciones y también su contenido en FND, FAD y LAD de manera secuencial (Van Soest et al., 1991).

Se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (1990). Las efectos considerados para la composición de la digesta ileal fueron la hora de recogida, cecotrofia permitida o no y su interacción. El animal se analizó como un efecto bloque. Las interacciones se analizaron mediante un análisis de varianza para cada tipo de animal y dentro de cada hora. Del mismo modo se analizó el efecto de la ceotrofia sobre la digestibilidad ileal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestra el efecto de la hora de recogida y de la cecotrofia sobre la composición de la digesta ileal. La hora de recogida, la cecotrofia y su interacción afectó significativamente al contenido en PB de la digesta pero no tuvo efecto sobre el contenido en Cr. Los animales que podían practicar la cecotrofia mostraron valores mas elevados de PB durante las horas de luz de 9 a las 15 horas (18.3 % como media) y los menores desde las 18 a las 24 horas (11.7%). Se obtuvieron valores intermedios durante las horas de las 3 y 6 de la mañana. No se observaron diferencias significativas con la hora en animales a los que se les impedía el consumo de cecótrofos (11.6% PB como media). Esto implicó que el contenido medio de proteína a lo largo del día fuera más alto en los animales con cecotrofia permitida (15.3 vs 11.6% PB). Estas variaciones son coincidentes con las observadas por Catala (1976) y Gidenne y Poncet (1985) y coinciden con el ritmo de ingestión de cecotrofos y pienso descrito por Carabaño y Merino (1996). En animales canulados sometidos al mismo ritmo de luz y oscuridad, estos últimos autores observaron que la ingestión de cecotrofos comienza a las 6 de la mañana y se prolonga hasta las 15 horas, con un pico de producción a las 11. Además estos autores señalan que antes de empezar la cecotrofia estos animales tienen un pico de ingestión de pienso que supone un 30% de consumo diario total. Del mismo modo, Gidenne y Poncet (1985) encuentran en el estómago una mezcla de pienso y cecótrofos de las 9 a las 15 horas con un contenido máximo en proteína hacia las 9 de la mañana proviniente de una mezcla a partes iguales de cecotrofos y pienso. Teniendo en cuenta un tiempo medio de retención en estómago de 3 horas y un tránsito de estómago a ileon de 1 a 2 horas esto nos llevaría a encontrar concentraciones elevadas de proteína entre las 10 y la 12 de la mañana como ocurre en este trabajo. Los datos obtenidos en animales sin cecotrofia apoyan estas observaciones. La falta de ingestión de cecotrofos hace disminuir la concentración de proteína del íleon a las mismas horas donde ésta es máxima cuando los animales se les permite practicarla. Por otro lado hay que tener en cuenta que una proporción muy elevada del nitrógeno que se encuentra en el íleon es de origen endógeno (entre un 60 y un 80%) y que el factor de variación más importante es el consumo de materia seca (García et al, 2001). El levado consumo de pienso mas cecótrofos durante las horas previas a la cecotrofia podría elevar el contenido de sustancias endógenas en el íleon durante este periodo. Este hecho explicaría porque no se encuentra una respuesta parecida en la concentración de Cr en íleón a pesar de que los cecotrofos contienen mas concentración que el pienso y que el íleon (2,13 vs 0,77 y 1,8 mg/kg Ms, rspectivamente). El incremento de sustancias endógenas, que no contienen Cr, podría atenuar las posibles variaciones a lo largo del día.

Por el contrario la concentración de proteína entre las 18 y las 24 horas parece proceder mayoritariamente del consumo de pienso. Gidenne y Poncet (1985) encuentran que la cantidad de cecótrofos en el estómago es casi nula durante estas horas. Los datos obtenidos en animales con privación de cecotrofia apoyan esta hipótesis dado que los concentraciones de PB en este periodo son similares a las observadas en animales que sólo ingieren pienso. Del mismo modo los datos de digestibilidad ileal de PB (Tabla 2), calculada con los datos medios del periodo entre las 18 a las 24 horas, muestra resultados simalares entre los animales que practicaban o no la cecotrofia (P>0.05).

La digestibilidad media a lo largo del día (tabla 2) resultó ser un 6,5% inferior y un 9% superior en los animales que practicaban la cecotrofia aunque debido a la alta variabilidad de estos parámetros no se lograron detectar diferencias significativas.

REFERENCIAS

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis (14th Ed).*Association of Official Analytical Chemists (Ed)*, Arlington, VA.

Catala J., 1976.. *Proc. 1st World Rabbit Congress (Dijon), communication 58.*

Carabaño R., Merino J.M. 996. *Proc. 6th World Rabbit Congress (Toulouse)* ***1****:121-126*

García A.I., Espinosa A., Carabaño R., De Blas C., 2001.. *ITEA,* ***22*** *(suppl. 1), 307-309.*

Gidenne T., Poncet C., 1985.. *Ann. Zootech.,* ***34****, 429-446.*

Gidenne T., Bouyssou T., Ruckebusch Y., 1988.. *Anim. Prod.,* ***46****, 147-151.*

SAS. 1990. SAS/STAT® User's Guide (Version 6, Fourth Edition). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.

Tabla 1. Efecto de la edad y de cecotrofia sobre la concentración de PB (% MS) y Cr (mg/ kg MS) de la digesta ileal

	Horas										
	9.00	12.00	15.00	18.00	21.00	24.00	3.00	6.00	Media	SEM	P hora
PB											
Con cecotrofia	20.3[a]	18.1[a]	16.5[ab]	11.4[c]	12.0[c]	11.2[c]	16.4[ab]	15.1[bc]	15.3	1.57	0.005
Sin cecotrofia.	11.6	11.9	12.5	11.2	11.0	11.1	11.9	-	11.6	0.38	0.16
P Diferencia*	0.05	0.03	0.03	0.50	0.17	0.33	0.1				
Cr											
Con cecotrofia	1.86	1.78	1.89	1.80	1.88	1.82	1.80	1.71	1.82	0.05	0.33
Sin cecotrofia	1.74	1.75	1.80	1.86	1.73	1.82	1.84	-	1.80	0.07	0.87

[a] medias dentro de la misma fila con letras distintas difieren significativamente ($P < 0.05$)

*Probalidad del efecto de la cecotrofia dentro de cada hora

Tabla 2. Efecto de la cecotrofia sobre la composición media del ileon y las cecotrafas y la digestibilidad ileal

	Con cecotrofia	Sin cecotrofia	SEM	Probabilidad
Consumo (g MS/día)	134.4	128.4	6.09	0.57
Cop. MS (g MS/día)	30.4	-	1.16	
PB pienso (% MS)	17.8	17.8		
PB ileon (% MS)	15.4	11.6	0.6	0.01
PB ileon 18-24 (% MS)	11.7	11.6	0.24	0.75
PB cecotrofos (% MS)	29.2		0.75	
Cr pienso (mg/kg)	7.68		-	
Cr ileon (mg/kg)	1.81	1.80		
Cr cop. (mg/kg)	2.13		0.13	
Dil MS (%)[1]	53.7	57.2	1.5	0.20
Dil PB (%)[1]	78.1	72.1	3.4	0.27
Dil MS 18-24 (%)[2]	57.8	57.2	0.8	0.60
Dil PB 18-24 (%)[2]	72.3	72.1	0.73	0.87

[1] calculado como : (consumo total MS (pienso+cecotrofas) – flujo total (pienso+cecotrofas)/consumo pienso) x 100.

[2] calculado como : (consumo pienso – flujo pienso/consumo pienso) x 100 utilizando los valores medios de las 18 a las 24 horas.

ESTUDIO DEL TEJIDO LINFOIDE ASOCIADO A INTESTINO EN GAZAPOS EN TORNO AL DESTETE.

Campín J[1]; Eiras P[2]; Rebollar P.G[1]; Carabaño R[1]

[1]Dpto.Producción Animal. ETSI Agrónomos. UPM. Madrid 28040.
[2]Servicio de Inmunología, Hospital Ramón y Cajal. Madrid

INTRODUCCIÓN

Para comprender la influencia de la nutrición sobre el sistema inmune y sus respuestas es de particular importancia el estudio del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal. En los escasos trabajos realizados en conejos se ha observado una influencia de la edad en el desarrollo de este tejido (Lanning *et al.*, 2000). En otras especies se ha puesto de manifiesto la importancia de la dieta en la modulación de la respuesta inmune (Goddeeris *et al.*, 2002). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la edad, el destete y del tipo de proteína en la dieta sobre la población linfocitaria de la lámina propia intestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales. Para estudiar la evolución del tejido linfoide con la edad, con el destete y el tipo de pienso se utilizaron un total de 72 gazapos. Se sacrificaron 12 animales lactantes por tratamiento a los 12, 19, 26 y 32 días de vida. Para estudiar el efecto del destete y del tipo de pienso se sacrificaron a los 32 días de vida dos grupos de 12 animales destetados a los 25 días que consumieron *ad libitum* los piensos experimentales.

Piensos. Para estudiar el efecto de la fuente de proteína se formularon dos piensos experimentales cuya principal fuente de proteína fuese torta de girasol o torta de soja48 y que cubriese las actuales recomendaciones en proteína total, nivel y tipo de fibra. La composición química y las materias primas de los piensos se muestran en las tablas 1 y 2 respectivamente.

Tabla 1. Composición química de los piensos experimentales

Análisis químico	SOJA 48	GIR 36
PB g/kg MS	193	197
FND, g/kg MS	332	324
LAD, g/kg MS	49	50
ED[a], MJ/kg MS	11,2	11,1
PD/ED[a], g/MJ	11,8	11,7

[a] Valores calculados según FEDNA (1999).

Tabla 2. Ingredientes de los piensos experimentales, g/kg de pienso

Ingrediente	SOJA 48	GIR 36
Trigo	290	276
Manteca	10	12
Harina girasol 36	0	172
Harina soja 48	129	0
Salvado y tercerillas	172	197
Alfalfa henificada	270	291
Cascarilla girasol	70	23
Cascarilla soja	31	0
C. Vitamínico-mineral	11,2	17,8
Antibióticos[a]	5,0	5,0

[a] 100 ppm de bacitracina de Zn y 60 ppm de apramicina sulfato.

Técnicas analíticas. Para la determinación de MS y PB se siguieron los procedimientos descritos por la AOAC (1990). Los análisis de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD), se realizaron según el método descrito por Van Soest *et al.* (1991). Para aislar los linfocitos de la mucosa duodenal, se cortó un tramo de 0.5 cm abriéndose longitudinalmente. Cada muestra se trató según el procedimiento descrito por Eiras *et al.* (1998). Para la extracción de los linfocitos de la lámina propia (LPL) de la muestra se incubó en 3 ml de RPMI STF10 % con 1ml/ml de

colagenasa. La cantidad de LPL (CD45) y su caracterización fenotípica (CD4, CD8, CD5 y CD25) se determinaron incubando la muestra con los correspondientes anticuerpos monoclonales (Cymbus Biotechnology LTD). El recuento se realizó mediante citometría de flujo (Becton Dickinson).

Análisis estadístico. Para estudiar la evolución de las poblaciones linfocitarias se realizó un análisis de varianza utilizando el proc GLM (SAS 1990) donde el efecto principal fue la edad. Para el estudio del destete y del tipo de pienso se compararon animales lactantes de 26 y 32 días con animales de 32 días destetados a los 25 días que consumieron los dos piensos experimentales mediante el mismo procedimiento. Las medias fueron comparadas mediante un test LSD protegido.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3 se muestra el efecto de la edad sobre la cantidad de linfocitos de la lámina propia (LPL) y la distribución fenotípica en gazapos lactantes. Se observó un efecto significativo de la edad sobre la cantidad de linfocitos presentes en lámina propia. Los animales de 26 días presentaron el mayor número de LPL ($p<0.015$). Este mayor número de linfocitos puede deberse a una respuesta rápida del tejido linfoide asociado a la mucosa a la entrada, a partir de los 18 días de edad, de antígenos procedentes del consumo de pienso y de la colonización microbiana (De Blas *et al.*, 1999). Según Okuyama *et al.* (1998), se observa una mayor translocación bacteriana a los nódulos linfoides mesentéricos, hígado y bazo en los gazapos alimentados con una dieta basada en productos lácteos que la observada en animales alimentados por la madre. Además, la presencia de contenido microbiano en el intestino es un factor primario de inducción en el desarrollo y diferenciación del tejido linfoide tanto en gazapos como en lechones (Lanning *et al.*, 2000; Pabst y Rothkötter, 1999). El número de LPL a 32 días de edad vuelve a niveles similares a los de 12 y 19 días. Este retroceso podría corresponder al establecimiento de una cierta tolerancia a los antígenos del pienso que ha estado ingiriendo en cantidades crecientes. Strobel y Mowat (1998), observan que este mecanismo de tolerancia se manifiesta en menos de 5 a 7 días después de su administración oral.

Tabla 3. Efecto de la edad sobre la cantidad de linfocitos de la lámina propia (LPL) y la distribución fenotípica (% sobre total linfocitos) presentes en duodeno de gazapos lactantes.

	12 días	19 días	26 días	32 días	EEM	P
LPL	0.66^{AB}	0.54^{B}	0.95^{A}	0.44^{B}	0.12	0.015
CD5+	66.8^{A}	64.0^{AB}	53.6^{B}	51.6^{B}	4.34	0.05
CD5-	33.2^{A}	35.9^{AB}	46.3^{B}	48.3^{B}	4.34	0.05
CD25+	27.8	28.5	34.1	24.8	4.87	0.651
CD5+ CD25+	17.0	19.2	15.5	9.7	3.45	0.381
CD4+	23.8	13.14	25.24	21.5	4.16	0.268
CD8+	16.3	14.27	10.43	19.9	2.94	0.130
CD4+ CD8+	8.9	3.16	3.31	4.6	1.66	0.052

Se observa un descenso con la edad en el número total de linfocitos T que expresan el marcador de superficie CD5 ($p<0.05$), así como un ascenso en el número de los que no lo expresan y que correspondería con el número de células plasmáticas productoras de anticuerpos y natural killer ($p<0.05$). Al determinar la expresión del marcador de superficie CD25, no se han observado cambios en el grado de activación de los linfocitos totales ni de los linfocitos T.

En cuanto a los linfocitos que expresan los fenotipos CD4+ o CD8+ tampoco se detectan cambios significativos en las edades estudiadas. En el caso de los linfocitos CD8+ de los animales lactantes de 32 días de edad la mitad de ellos presentaron porcentajes medios similares a los CD8+ que tiene un animal destetado (tabla 4) y la otra mitad a los que tiene un animal lactante de menor edad. Esto sugiere que la existencia de una mayor o menor cantidad de linfocitos CD8+ dependerá de la proporción de pienso/leche que haya

ingerido, la producción de leche de la madre, etc. En cuanto a la relación CD4:CD8 en gazapos lactantes es mayor que 1 independientemente de la edad. Aunque en los primeros días de vida se han descrito relaciones menores que 1 tanto en lechones como en cabras (Goddeeris *et al.*, 2002; Navarro *et al.*, 1996) esta relación en los gazapos estudiados tiende a ser mayor que 1 con la edad. Los linfocitos T con fenotipo inmaduro CD4+ y CD8+ muestran una ligera tendencia a disminuir con la edad ($p<0.052$).

Los animales destetados a los 25 días de edad, e independientemente del tipo de dieta, presentaron un porcentaje de linfocitos totales, de linfocitos CD4+ CD8+ o indiferenciados y de linfocitos T activados superior a animales de la misma edad sin destetar. Esto podría indicar que el tejido linfoide asociado a la mucosa presenta un mayor desarrollo y activación en animales destetados que ha sido descrito en otras especies (Solano–Aguilar et al., 2001). Al contrario de lo que se ha descrito en lechones con dietas basadas con torta de soja (Dréau *et al.*, 1995), la fuente de proteína vegetal utilizada en la dieta de los gazapos destetados no afectó a la respuesta inmunitaria. De acuerdo con Pathirana *et al.* (1981), la coneja es capaz de transmitir anticuerpos anti-soja a la descendencia que suprimirían una respuesta inmunitaria ante la presencia de este tipo de proteína en la dieta del gazapo.

Tabla 4. Efecto del destete y de la fuente de proteína vegetal sobre la cantidad de linfocitos de la lámina propia (LPL) y la distribución fenotípica (% sobre total de linfocitos) presentes en duodeno.

	Lactantes		Destetados 32 d		EEM	P
	26 días	32 días	Soja	Girasol		
LPL	0.95^{A}	0.44^{B}	0.94^{A}	1.18^{A}	0.13	0.0006
CD5+	53.6	51.6	62.8	61.0	4.28	0.144
CD5-	46.3	48.3	37.1	33.9	4.23	0.064
CD25+	34.1	24.8	26.8	24.5	3.61	0.213
CD5+ CD25+	15.5	9.7	17.4	17.4	2.77	0.078
CD4+	25.24	21.5	24.7	28.5	4.25	0.757
CD8+	10.43	19.9	13.0	18.9	2.85	0.074
CD4+ CD8+	3.31^{A}	4.6^{A}	12^{B}	13.1^{B}	1.28	0.0001

Estos resultados constituyen un punto de partida para el estudio de la respuesta inmune de la mucosa en gazapos y para identificar los factores que influyen la capacidad de respuesta ante el estrés y la exposición a antígenos que suceden con el destete. Sin embargo, sería necesario un mayor repertorio de marcadores para la mejor caracterización de las diferentes subpoblaciones linfocitarias en el conejo.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis (14th Ed).*Association of Official Analytical Chemists (Ed)*, Arlington, VA.

Eiras P.; Roldán E.; Camarero C.; Olivares F.; Bootello A.and Roy G. (1998). Cytometry (Communications in Clinical Cytometry) **34,** 95-102.

De Blas C.; Gutierrez I.; Carabaño R. (1999). Avances en nutrición animal. FEDNA. Pp: 65-82.

Dréau D.; Lalleès J.P.; Toullec R. y salmon H. (1995). *Vet. Immunol. Immunopathol.*,**47,** 69-79.

Goddeeris B.M.; Boersma W.J.A.; Cox E.; Van der Stede Y.; Koenen M.E.; Mast J.; Van den Broeck W. (2002). En: Nutrition and Health of the gastrointestinal tract. *Wageningen Academic Publishers*, pp: 97-134.

Lanning D.; Sethupathi P.; Rhee K.J.; Zhai S.K. y Knight K.L. (2000). Journal of Immunology, **165,** (4), 202-2019.

Navarro J.A.; Seva J.; Caro M.R.; Sánchez J.; Gómez M.A.; Bernabé A. (1996). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **55**, 303-311.

Okuyama H.; Urao M.; Drongowski R.A.; Coran A.G. (1998). *J. Pediatr. Surg.*, **33**, 225-228.

Pabst R. and Rothkötter H.J. (1999). *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **72,** 167-173.

Pathirana C.; Goulding N.J.; Gibney M.J.; Gallagher P.J.; Pitts T.J.; Taylor T.J. (1981). *Proc. Nutr.Soc.*, **40**. 26 A.

SAS. 1990. SAS/STAT® User's Guide (Version 6, Fourth Edition). SAS Inst. Inc., Cary, NC

Solan Aguilar G.I; Kelly G.; Beshah E.; Douglass L.W. y Lunney J.K. (2001). *Devlop. comp.. Immunol.* **25,** 245-263.

Strobel S. and Mowat A. M. (1998). *Immunol. Today* , **19,** 4, 173-181

Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.

EFECTO DE LA ADICIÓN DE FITASA MICROBIANA EN LA RETENCIÓN DE MINERALES EN POLLOS BROILER, CON O SIN INACTIVACIÓN DE LA FITASA ENDÓGENA DEL CEREAL

Juanpere, J., Pérez-Vendrell, A.M., and Brufau, J.
Departamento de Nutrición Animal, IRTA, Centre Mas Bové, Ap. 415, 43280 Reus

INTRODUCCIÓN

La fitasa es una enzima ampliamente utilizada en los últimos años, debido especialmente a su gran interés tanto desde un punto de vista nutricional como medioambiental. Nutricional porque al incorporarse al pienso produce un aumento en el aprovechamiento de fósforo que se encuentra en forma de fitato, y medioambiental porque se reduce la cantidad de fósforo excretado, disminuyendo la posible eutrofización de las aguas del terreno.

La actividad fitásica produce la ruptura de las moléculas de fitato (no digerible para los animales) a grupos mio-inositol y grupos ortofosfatos (PO_4^{3-}) que son plenamente disponibles para los animales. El rango de temperatura óptima de la fitasa es de 45-60° C, con una rápida degradación a medida que la temperatura va aumentando. (Rebollar y Mateos, 2000)

Los animales pueden utilizar la fitasa provenientes de varios orígenes:1) de la microflora bacteriana del intestino; 2) de la fitasa endógena de las materias primeras utilizadas en la fabricación del pienso; 3) de la adición de fitasa exógena al pienso, generalmente de origen microbiano. La actividad principal se debe, principalmente, a los dos últimos casos.

En la fabricación del pienso se llega, a menudo, a temperaturas de entre 80 y 90° C, con lo que se puede asumir que la fitasa procedente del cereal se destruye completamente, ganando importancia la incorporación de fitasa exógena protegida de las altas temperaturas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la adición de fitasa microbiana en la retención de minerales, dependiendo de la presencia o no de fitasa endógena, inactivada por un proceso de autoclave.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron trescientos y ochenta y cuatro pollos de un día de vida de la estirpe Ross 308, que fueron alojados en 48 jaulas en dos baterías Petersime, provistas de calefacción eléctrica, en una sala sin ventanas provista de calefacción eléctrica y ventilación forzada. Los programas de luz y temperatura fueron los de uso común en la granja; así como la limpieza, desinfección y vacunación que se llevaron a cabo según la práctica habitual. El agua y el pienso fueron suministrados *ad-libitum* durante el experimento.

Los tratamientos estaban basados en: dos niveles diferentes de fósforo inorgánico [un nivel normal de 0.45% (NRC, 1994), y un nivel deficiente de 0.27%], uso de cebada no tratada o cebada pasada por el autoclave, y la adición o no de 500 U/kg de pienso de una fitasa microbiana experimental (SP-1002). La cebada, de la variedad Baraka de la cosecha del 2000, fue tratada por vapor caliente en un proceso de autoclave a 105° C durante 15 minutos en bandejas de 10mm de profundidad, evaluándose la total destrucción de la fitasa al final del proceso. Las dietas incorporaban un 0.5% de óxido de titanio como marcador de digestibilidad.

A los 21 días, se recogieron muestras de excreta, liofilizadas, y analizado el óxido de titanio y la concentración de fósforo total. Desde el día 22 al 24, todos los pollos fueran sacrificados por inyección intravenosa de pentobarbital sódico. Se cortaron los dedos centrales de las patas (entre el segundo y el tercer tarso), para posterior obtención de la cantidad de cenizas. La concentración de fósforo total fue obtenida mediante análisis colorimétrico por el método de molibdo-vanadato (AOAC, 1990), y el calcio fue analizado por espectrofotometría de absorción atómica de llama.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados respecto a la retención y excreción de fósforo y calcio, así como los del porcentaje de cenizas en los dedos, se muestran en la tabla de resultados. La cantidad de cenizas en los dedos aporta información sobre la mineralización de los huesos de los pollos, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Los animales que comieron los controles negativos (deficientes en fósforo) mostraron valores más bajos que los del resto; los animales que comieron de los tratamientos con valor bajo de fósforo e incorporaban fitasa presentaron valores más altos que los anteriores, corrigiendo parcialmente la deficiencia de fósforo en la dieta. Con estos resultados se puede corroborar la mayor deposición de minerales en hueso cuando se añade la enzima fitasa.

Respecto al contenido de fósforo excretado, los valores de las excretas de los animales que comieron dietas deficientes de fósforo (control negativo y con fitasa) fueron inferiores a los obtenidos en la dieta control positivo, en, aproximadamente, 0.35% en valor absoluto; aunque, podría pensarse de la posibilidad que hubiera una interacción entre la presencia de la enzima fitasa y el proceso de autoclave. Por otra parte, los niveles obtenidos de calcio en la excreta de pollos que comieron dietas deficientes de fósforo son más bajos de los que comieron dieta control en un 30%. La inclusión de fitasa microbiana mejoró significativamente la retención de fósforo si la comparamos a la dieta control, resultados que están de acuerdo con anteriores conseguidos en nuestro grupo (Pérez-Vendrell *et al.*, 1999).

La retención de calcio fue menor en las dietas con la cebada tratada en el autoclave que respecto a las que contenían cebada no tratada; la adición de fitasa microbiana en dietas con cebada no tratada no mejoró la retención de calcio de las dietas deficientes de fósforo, pero en las dietas con cebada tratada, la inclusión de fitasa mejoró la retención de calcio hasta llegar a niveles similares a los de la dieta control positivo.

Algunos autores, como Dieckmann *et al.*(2002), han estudiado los efectos de la disminución de la excreción de calcio y fósforo, o lo que es lo mismo, el aumento en la retención de estos minerales. En estos trabajos, se ve la importancia de mantener una relación entre el calcio y el fósforo, en el pienso, no muy elevada con valores de Ca:P 1:1 o 2:1; con estas relaciones se puede conseguir que la retención de los minerales sea más elevada.

En general, no se observaron muchos efectos debido a la presencia o no de fitasa endógena en la cebada presente en el pienso, pero la inclusión de fitasa microbiana en dietas deficientes de fósforo incrementó la retención de éste mineral y disminuyó su presencia en la excreta (por encima del 45%) del pollo, comportando una disminución del impacto negativo en el medioambiente, sin merma de la productividad.

	Tratamiento de la dieta						Análisis estadístico	
	DIETAS CON CEBADA NO TRATADA			DIETAS CON CEBADA AUTOCLAVE				
Criterio	Control positivo (CP)	Control negativo (CN)	CN + Fitasa EC 3.2.1.8	Control positivo (CP)	Control negativo (CN)	CN + Fitasa EC 3.2.1.8	Error estándar	Proba-bilidad
RETENCIÓN FÓSFORO (%)	57.57^{cd}	62.21^{bc}	64.51^{b}	54.39^{d}	57.75^{cd}	69.28^{a}	1.62	***
FÓSFORO TOTAL EN EXCRETA (%/MS)	0.73^{a}	0.42^{c}	0.41^{c}	0.78^{a}	0.47^{b}	0.38^{c}	0.02	***
RETENCIÓN CALCIO (%)	57.17^{a}	44.99^{b}	46.65^{b}	29.76^{c}	22.75^{d}	38.18^{c}	2.26	***
CALCIO EN EXCRETA (%/MS)	1.49^{b}	1.05^{d}	1.00^{d}	1.68^{a}	1.19^{c}	1.05^{d}	0.04	***
CENIZAS DEDOS (%/MS)	12.73^{a}	10.40^{c}	11.78^{b}	12.82^{a}	10.54^{c}	11.95^{b}	0.20	***

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists (1990) "Official methods of analysis". 15th ed., Assoc. Anal. Chem., Washington D.C.

Dieckmann, A., Timmler, R., Rodehutscord, M. (2002). "Investigation on the optimal Ca:P ration in studies on P availability in broiler chicken." 11th European Poultry Conference (Póster)

NRC (1994)

Pérez-Vendrell, A.M., Salvadó, R., Angulo, E., Brufau, J. (1999) "Efectos de fitasa microbiana sobre la productividad de pollos broiler en función del tipo de dieta." Symposium WPSA. Valladolid, Octubre (Póster)

Rebollar, P. G., Mateos, G. G. (2000) "El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad (I)" Anaporc 203: 90-112.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 666-668

DEGRADACIÓN RUMINAL DE LAS SEMILLAS DE GIRASOL Y CARTAMO*

J. González y S.G. Andrés
Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica. 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

La utilización de semillas de oleaginosas en la nutrición de rumiantes está favorecida por su considerable contenido en grasa (parte de la cual es by-pass) y proteína. Sin embargo, el aprovechamiento proteico de estas semillas está limitado, en general, por la elevada degradabilidad en el rumen de sus proteínas. Dentro de la familia de las compuestas, este hecho está constatado en los aquenios de girasol, mientras que prácticamente no existen datos para los de cartamo. Por otra parte, la composición química y otros parámetros nutritivos de estos frutos pueden variar de forma amplia con diversos factores (variedad, rendimiento y condiciones de cultivo...), al condicionar éstos, además, la relación pericarpio:almendra de los aquenios. Así, este trabajo pretende caracterizar los aspectos químicos y la degradación ruminal de la materia seca (MS) y la proteína bruta (PB) de las semillas de girasol y cartamo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ensayaron cuatro semillas: tres de girasol (SG) y una de cartamo (SC), para las que se analizaron los parámetros químicos indicados en la tabla 1. La determinación de la degradación ruminal se realizó en tres corderos adultos, fistulizados en rumen y alimentados con una ración constituida por heno de pradera y pienso concentrado en proporción 2:1 en base a MS, distribuida en dos comidas/día (9:00 y 17:00 h), a un nivel de 40 g MS/kg $P^{0,75}$. Se utilizaron bolsas de nylon de 7 x 11 cm (46 μm de tamaño de poro), conteniendo muestras de 3 g, molidas a 2 mm. Un total de 36 bolsas por alimento, repartidas en dos series de incubación, fueron introducidas en el rumen de los corderos después de la primera comida de la mañana durante tiempos de 2, 4, 8, 16, 24 y 48 h. Tras la incubación, las bolsas fueron someramente lavadas con agua corriente y almacenadas a –20 °C. Tras su descongelación fueron lavadas con agua fría en una minilavadora de turbina (3 x 5 min.), secadas en estufa (80 °C, 48 h), pesadas y analizadas para nitrógeno Kjeldahl. La evolución de la desaparición de MS y PB se modelizó individualmente para cada animal según el modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), determinándose la degradabilidad efectiva (DE) en base a la tasa de salida de partículas del rumen (5,04%/h) determinada para el concentrado marcado por inmersión con Yb (González *et al.*, 2002). La comparación entre las muestras se realizó mediante análisis de varianza, considerando los corderos como bloques, seguido de un test *t* para la mínima diferencia significativa. Estos estudios, así como los de regresión no lineal empleados en las modelizaciones, se realizaron mediante el programa S.A.S. (versión 6.12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de composición química de las muestras, ordenados por su contenido decreciente en PB, se indican en la tabla 1. La composición química de

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº GAN 89-0126.

las semillas de girasol mostró cierta variación, siendo la evolución de la concentración en extracto etéreo (EE) opuesta a la de PB o de las fibras. De hecho, la variación de la PB fue básicamente consecuencia de la producida para el EE, ya que este contenido fue similar al expresarse sobre la muestra delipidada. Las proporciones de N asociado a la fibra neutro detergente (N-FND) y ácido detergente (N-FAD) fueron bajas, especialmente en la muestra SG_3, probablemente por las bajas concentraciones de fibra de esta muestra. Los contenidos en PB y EE en la semilla de cartamo fueron menores que en las semillas de girasol, observándose el suceso contrario para la concentración de FND. Estas diferencias deben estar relacionadas en parte con el menor tamaño de los aquenios de cartamo lo que incide negativamente sobre la relación almendra:cascarilla. Por el contrario, tanto su contenido en FAD, como las proporciones N-FND y N-FAD se integran en los rangos observados para las semillas de girasol. La solubilidad en solución tampón (tabla 1) fue muy elevada en todas las muestras lo que es natural en este tipo de semillas, que no han recibido además ningún tratamiento térmico, siendo máxima en la semilla de cartamo.

Tabla 1. Composición química y solubilidad de la proteína bruta en solución tampón de las semillas de girasol (SG) y cartamo (SC)

Item	SG_1	SG_2	SG_3	SC
		% sobre MS		
Cenizas	4,1	3,2	3,7	2,4
Proteína bruta	22,6	19,6	18,3	16,4
Extracto etéreo	39,2	44,4	48,4	37,5
Fibra neutro detergente	28,1	29,0	23,2	39,7
Fibra ácido detergente	24,9	21,3	10,4	18,4
		% sobre PB		
PB asociada a FND	8,9	7,5	3,9	7,5
PB asociada a FAD	5,0	4,6	2,1	4,9
Solubilidad PB	53,4	54,7	59,3	62,2

Estos hechos se constataron también para la fracción de PB soluble (*a*) determinada *in situ*, ordenándose las muestras en el mismo orden y apreciándose un mayor valor para la semilla de cartamo frente a las de girasol. La muestra de cartamo presentó también una mayor fracción de PB indegradable (*i*) y lógicamente una menor fracción potencialmente degradable (*b*). Estas diferencias tendieron, sin embargo, a compensarse, ya que la DE de su PB fue sólo ligeramente superior a la de las semillas de girasol. La degradación de la PB de las semillas de girasol mostró pocas diferencias entre muestras, siendo las fracciones *a* y *b* prácticamente complementarias al ser la fracción *i* muy similar en todas ellas. Consecuentemente, no se apreciaron diferencias a nivel de su DE. Los valores aquí obtenidos son inferiores a los indicados por el N.R.C. (2001) y Sauvant *et al.* (2002) (92 y 89%, respectivamente).

Los resultados de degradación de la MS (tabla 2) deben considerarse con precaución ya que la desaparición de las materias grasas de la bolsa no implica su degradación. Los valores de mayor interés son pues los correspondientes a la fracción indegradable, para los que existen importantes diferencias entre muestras, ordenándose estos valores de forma paralela al contenido en FND. La relación

directa entre la fracción *i* y la concentración de paredes celulares ha sido demostrada por Andres (1990) sobre una muestra de semillas de oleaginosas más amplia que ésta. La comparación de las cinéticas de degradación de la MS de las semillas de cartamo *vs* las de girasol, muestra las mismas tendencias ya apreciadas para la PB. Sin embargo, la DE fue intermedia a las de las semillas de girasol. Aunque existieron diferencias entre estas últimas muestras, éstas no fueron muy elevadas.

Tabla 2. Cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva (DE, %) de las semillas de girasol (SG) y cartamo (SC)

	Materia seca					Proteína bruta				
	a	*b*	*i*	k_d	DE	*a*	*b*	*i*	k_d	DE
SG_1	$38,6^{bc}$	$46,8^{a}$	$14,6^{c}$	9,33	$68,8^{a}$	$46,6^{b}$	$49,3^{a}$	$4,1^{b}$	11,5	$80,7^{b}$
SG_2	$36,5^{c}$	$41,9^{b}$	$21,6^{b}$	9,21	$63,6^{c}$	$49,9^{b}$	$43,7^{ab}$	$6,4^{b}$	11,2	$80,0^{b}$
SG_3	$41,0^{b}$	$39,9^{b}$	$19,1^{b}$	10,0	$67,3^{b}$	$52,3^{b}$	$42,2^{b}$	$5,5^{b}$	11,8	$81,8^{ab}$
SC	$52,0^{a}$	$20,2^{c}$	$27,8^{a}$	11,3	$65,9^{b}$	$69,9^{a}$	$20,6^{c}$	$9,5^{a}$	10,2	$83,7^{a}$
E.S.M.	1,28	0,95	0,85	1,24	0,41	2,33	1,83	0,70	1,12	0,55

a, *b* e *i* (%) son las fracciones soluble, insoluble y potencialmente degradable e indegradable, respectivamente. k_d (%/h) es la tasa fraccional de degradación.
E.S.M.: error standard de la media.
Valores con distinto superíndice son diferentes a $P < 0,05$.

Los resultados muestran que diferencias de importancia en las características físico-químicas en las semillas de cartamo y girasol, o entre éstas últimas, tienen un escaso efecto sobre la degradabilidad de su PB. No obstante, la semilla de cartamo tendría un menor valor nitrogenado como consecuencia de su muy superior contenido en PB soluble y PB indegradable.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrés, S.G. 1990. Efecto de las características físico-químicas de los concentrados proteicos sobre la degradación ruminal de sus materias nitrogenadas. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 141 pp.

González J., Andrés S.G., Rodríguez C.S., Alvir M.R. 2002. In situ evaluation of the protein value of soybean meal and processed full fat soybeans for ruminants. Anim. Res. 51, 455-464.

N.R.C. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. National Academy Press, Washington, D.C. 381 pp.

Ørskov E.R., McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci. Camb. 92, 499-503.

S.A.S. 1990. SAS/STAT User's Guide. Statistical Analysis Systems Institute Inc., North Carolina. 1686 pp.

Sauvant D., Perez J.M., Tran G. 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage, INRA-Association Française de Zootechnie. 301 pp.

DETERMINACIÓN *IN SITU* DEL VALOR NITROGENADO DE LA SEMILLA DE ALGODÓN*

J. González, J. Faria-Marmol, María R. Alvir y C.A. Rodríguez
Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I. Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid. 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

La semilla de algodón es un alimento de uso exclusivo en rumiantes, al disminuir sensiblemente la toxicidad de sus factores antinutritivos (gosipol y ácidos grasos ciclopropenoicos) con la digestión ruminal. Pese a su elevado contenido en proteína, es un producto voluminoso, al contener la cascarilla y restos de borra. Consecuentemente, su empleo más eficaz es en los sistemas unifeed, especialmente en animales lecheros, debido a su apreciable contenido en grasa by-pass y a ser una fuente de fibra efectiva que estimula la rumiación y la dinámica ruminal. Los valores aparentes de la degradabilidad efectiva (DE) de su proteína bruta (PB) son aceptablemente conocidos. En cambio, existen pocos datos precisos sobre su digestibilidad intestinal. Rodríguez *et al.* (1999) identificaron al contenido en celulosa del alimento como el factor principal determinante de la subestimación de la DE de la PB determinada *in situ*, al ser éste el principal sustrato objeto de colonización microbiana permanente. Considerando la alta concentración de celulosa en este alimento, el objetivo de este trabajo fue cuantificar esta subvaloración, así como estimar la digestibilidad intestinal de la proteína by-pass.

MATERIAL Y MÉTODOS

En estos estudios se han utilizado 3 corderos adultos, fistulizados en rumen y duodeno, alimentados con una ración constituida por cantidades iguales (en MS) de silo de maíz, silo de ray-grass y concentrado, distribuida, a 40 g MS/kg $P^{0,75}$, en 6 comidas/día, utilizando distribuidores automáticos. Las incubaciones ruminales se realizaron utilizando bolsas de nylon (7 x 11 cm de dimensiones internas y 46 μm de poro) conteniendo 3 g de muestra, molida a 2 mm. De forma previa y durante estos estudios se infundió de forma continua en el rumen una sal de ^{15}N, aislándose, al final del período experimental, una muestra de bacterias adherentes para realizar la corrección de los resultados en base a su contaminación microbiana. Se realizaron 2 incubaciones, con muestras duplicadas, a tiempos de 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 y 72 h. Tras ser extraídas del rumen, las bolsas fueron someramente lavadas con agua corriente y almacenadas a –20 °C. Tras su descongelación, se lavaron en una minilavadora de turbina (3 x 5 min.). Este proceso de lavado se utilizó también para establecer el valor a 0 h. Una de las réplicas se desecó a 80 °C durante 48 h, siendo analizada para MS, N y ^{15}N, liofilizándose la segunda réplica. La evolución de la desaparición de MS y PB (aparente y corregida) se ajustó en cada animal a un modelo exponencial (Ørskov y McDonald, 1979), determinándose la degradabilidad efectiva (DE) en base a la tasa de salida de partículas del rumen (4,93%/h) determinada, como indican González *et al.* (1998), para el concentrado marcado por inmersión con Yb (10 mg Yb/g de alimento). Los residuos liofilizados se mezclaron uniformemente para cada tiempo de incubación ruminal. Para determinar la digestibilidad intestinal efectiva (DIE), a partir de éstas se compuso una nueva

* Trabajo financiado por la CICYT. Proyecto nº AGF 98-0842.

muestra representativa del flujo ruminal, mediante ponderación en base a la cinética de degradación de la MS y la tasa de salida de partículas del rumen. Esta muestra se analizó para MS y N, preparándose 6 submuestras (200 mg) en microbolsas de nylon (mismo material; ∅ = 2,2 cm), que se introdujeron por la cánula duodenal (2 por animal) y se recuperaron en las heces, procesándose de forma idéntica a la indicada para las bolsas incubadas en el rumen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición química (g/kg de MS) de la muestra estudiada fue: materia orgánica (MO) = 954; extracto etéreo = 221; PB = 214; fibra neutro detergente (FND) = 465; fibra ácido detergente (FAD) =339 y lignina ácido detergente = 87,2. Las proporciones de N asociado a FND y FAD fueron respectivamente 8,33 y 6,55% del N total.

La comparación (test *t* de muestras paredas) de los valores medios, aparentes y corregidos, de degradación en el rumen se expone en la tabla 1. La corrección de la contaminación microbiana de los residuos de incubación produjo una reducción significativa de la fracción indegradable de MS y PB. Esta reducción fue, sin embargo, limitada, de forma que el aumento de DE debido a esta corrección sólo se apreció a nivel de tendencia (P = 0,09 y P = 0,052 para MS y PB, respectivamente). Los limitados efectos de la contaminación microbiana sobre los valores de degradación de este alimento, a pesar de su alto contenido en fibra y especialmente en celulosa, deben atribuirse a que las fibras de celulosa pura que constituyen la borra son totalmente degradadas (lo que se apreció mediante la observación visual de los residuos), no contribuyendo pues a la fracción indegradable. Así, ésta estaría constituida básicamente por la cascarilla, altamente lignificada (Sauvant *et al.*, 2002), siendo pues muy bajo su nivel de colonización microbiana, como muestran los bajos valores observados para esta colonización tras 72 h de incubación (4,9 mg de MS microbiana/100 mg de MS de residuo, como media). Dado el escaso contenido en PB indegradable de este alimento, la contaminación nitrogenada asociada fue muy superior (31,2 mg N microbiano/100 mg N total).

Tabla 1. Valores aparentes y corregidos por la contaminación microbiana de la cinética de degradación en el rumen y degradabilidad efectiva (DE) de la semilla de algodón.

	Materia seca			Proteína bruta		
Item	aparente	corregido	e.s.d.	aparente	corregido	e.s.d.
a (%)	24,7	24,2	0,96	46,0	45,3	1,43
b (%)	46,2	48,3	1,03	46,9	51,0	1,54
i (%)	29,1	27,5	0,27*	7,1	3,7	0,26**
k_d (%/h)	6,0	6,3	0,07†	8,3	8,7	0,18
DE (%)	50,0	51,2	0,38†	75,5	77,9	0,57†

a, *b* e *i* son las fracciones soluble, insoluble y potencialmente degradable e indegradable, respectivamete. k_d: tasa fraccional de degradación; e.s.d.: error estándar de la diferencia.
† P < 0,1; * P < 0,05; ** P < 0,01.

La digestibilidad intestinal de la fracción insoluble de la MS y PB disminuyó de forma exponencial con el tiempo de pre-incubación ruminal (datos no presentados). Así, entre 0 y 72 h de incubación ruminal, la digestibilidad intestinal disminuyó de 39,2 a 2,6% para la MS y de 85,1 a 9,9% para la PB. Esta reducción es consecuencia del progresivo enriquecimiento de los residuos en compuestos indigestibles al prolongarse las acciones microbianas ruminales. En el caso de la PB, este enriquecimiento se vio favorecido por la alta proporción de PB soluble y por la más rápida tasa de degradación. Dada la importante variación observada, la digestibilidad intestinal no puede estimarse de forma puntual para un tiempo fijo de incubación ruminal, siendo necesario estimar el valor efectivo correspondiente al flujo post-ruminal de digesta. Los valores obtenidos para DIE fueron 20,3 ± 0,47% para la MS y 65,8 ± 0,5% para la PB. Este último valor es inferior a los valores de 80 y 71% propuestos respectivamente para este alimento por el NRC (2001) y por Sauvant *et al.* (2002). Por el contrario, es idéntico a la estimación obtenida aplicando la ecuación propuesta por Webster *et al.* (1984), utilizada en el sistema de la proteína metabolizable inglés.

Nuestros resultados muestran un valor nitrogenado moderado para este alimento, como consecuencia de: i) su elevada proporción de PB soluble. ii) La degradabilidad de su PB, que se sitúa en el umbral de los valores considerados elevados. iii) La moderada degradabilidad de la MS, que, considerándola similar a la correspondiente a la MO, indicaría una moderada síntesis ruminal de proteína microbiana a partir de este alimento. iv) La moderada digestibilidad intestinal de su proteína by-pass. Así, la aplicación de tratamientos térmicos a esta semilla implicaría una mejora de su valor nitrogenado al trasladarse el sitio de digestión de la proteína hacia el intestino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

González J., Rodríguez C.A., Andrés S.G., Alvir M.R., 1998. Rumen degradability and microbial contamination of fish meal and meat meal measured by the in situ technique, Anim. Feed Sci. Technol. 73 71-84.

N.R.C., 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. Seventh Revised Edition. National Academy Press. 381 pp.

Ørskov E.R., McDonald I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage, J. Agric. Sci. Camb. 92: 499-503.

Rodríguez C.A., González J., Alvir M.R., Cajarville C., 1999. Underestimation of in situ effective degradability of N due to microbial contamination, en: Lobley G.E., White A., MacRae C. (Eds.), Book of abstracts of the VIIIth International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Aberdeen, United Kingdom, 67pp.

Sauvant D., Perez J.M., Tran G., 2002. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage, INRA-Association Française de Zootechnie, 301 pp.

Webster A.J.F., Kitcherside M.A., Keirby J.R., Hall P.A., 1984. Evaluation of protein feeds for dairy cows, Anim. Prod. 8:548.

EFECTO DEL pH SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*

R. Bodas, C.J. Newbold* y S. López
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León
* Rowett Research Institute. Bucksburn, Aberdeen. AB21 9SB. Reino Unido.

INTRODUCCIÓN

En numerosos estudios se ha analizado y comprobado el efecto que el pH tiene sobre diversos parámetros de la fermentación ruminal, entre ellos la producción de metano y ácidos grasos volátiles y las proporciones molares de acetato y propionato (Lana *et al.*, 1998). Asimismo, al disminuir el pH se puede inhibir la lipolisis y biohidrogenación en el rumen, lo que explicaría el incremento en el grado de insaturación de los ácidos grasos presentes en el rumen y de los que llegan al duodeno (Doreau y Ferlay, 1994; Demeyer y Doreau, 1999). El pH puede variar en función del tipo de dieta que ingiere el animal, pero también se puede intentar su modificación mediante el empleo de aditivos que actúen amortiguando las variaciones de pH que tienen lugar en el rumen, tales como el bicarbonato sódico.

El objetivo de este trabajo de investigación fue estudiar los cambios provocados en la fermentación ruminal in vitro al incubar una ración para animales rumiantes modificando el pH del medio de cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó como sustrato una ración, cuya composición (por kg) fue la siguiente: 500 g de heno, 300 g de cebada, 100 g de soja, 90 g de melazas y 10 g de corrector vitamínico mineral.

Las incubaciones in vitro se llevaron a cabo en viales de 125 ml, en cada uno de los cuales se pesaron aproximadamente 120 mg de la ración. El medio de cultivo empleado fue el descrito por Menke y Steingass (1988), modificando el pH mediante la adición de HCl concentrado hasta ajustar el pH a valores de 5,5, 6,0 y 6,5. Posteriormente el medio fue gaseado con CO_2 mientras se llevaba a ebullición.

Se recogió líquido ruminal de ovejas adultas fistuladas en el rumen y alimentadas con la misma ración que sirvió como sustrato en el experimento. El líquido fue recogido entre 1 y 2 horas después de la administración del alimento en la primera comida de la mañana y trasladado inmediatamente al laboratorio en un termo. En el laboratorio el líquido ruminal fue filtrado, mantenido a 39ºC con un burbujeo continuo de CO_2 y diluido con el medio de cultivo en una proporción de 1:2 (v/v). En condiciones de anaerobiosis se dosificaron 18 ml de líquido ruminal diluido en cada vial. Los viales fueron inmediatamente cerrados con un tapón de goma, precintados con una cápsula de aluminio y colocados en un baño de agua a 39ºC donde se incubaron con agitación continua.

Se realizaron tres tandas de incubación en días no consecutivos, utilizando en cada una de ellas líquido ruminal de un animal distinto para poder evaluar las variaciones entre individuos. Con cada inóculo se utilizaron cuatro viales para cada nivel de pH, para disponer de dos de ellos en cada muestreo.

El primer muestreo se realizó al inicio de la incubación tras la inoculación de los viales (0 h). Se abrieron los viales correspondientes, se midió el pH en el medio de incubación y se tomó una muestra para la determinación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) y ácidos grasos de cadena larga (AGCL) mediante cromatografía de gases y de proteína mediante inmunoensayo. Los valores obtenidos fueron tomados como referencia para el cálculo de la producción de AGV, AGCL y del aumento de proteína en el cultivo tras 24 h de incubación. A las 24

horas se midió la cantidad total de gas producido, se detuvo la fermentación mediante la inmersión en un baño de hielo de los viales restantes y se tomó una muestra del gas acumulado en el espacio de cabeza del vial para analizar su composición mediante cromatografía de gases. Después de esto se abrieron los viales para proceder como en el caso anterior. Las muestras para la determinación de AGV, AGCL y proteína fueron mantenidas en el refrigerador hasta su análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos tras 24 h de incubación se muestran en la Tabla 1. Se observó una diferencia significativa en la producción de acetato y propionato, cuya producción fue más de un 50% más elevada para los valores de pH de 6,0 y 6,5 con respecto a 5,5. La relación acetato/propionato disminuyó al aumentar el pH (3,85; 3,76 y 3,64 para valores de pH de 5,5; 6,0 y 6,5, respectivamente), al ser mayor el aumento relativo en la producción de propionato.

De igual manera, la cantidad total de hexosas fermentadas, calculadas según la fórmula propuesta por Demeyer y Van Nevel (1975), fue mayor ($P<0,05$) cuando el pH subió de 5,5 a 6,0 que cuando lo hizo de 6,0 a 6,5, siendo más de un 40% mayor para los valores de pH más altos (6,0 y 6,5) con respecto al más bajo (5,5). Al contrario que lo observado por Lana *et al.* (1998), no se encontraron diferencias significativas en la producción de metano, ni siquiera entre los valores más alto y más bajo de pH a pesar de que la diferencia numérica entre ambos niveles en la producción de metano fue de un 40%. El aumento en la cantidad de hexosas fermentadas al aumentar el pH, unido a la falta de diferencias significativas en la producción de metano, nos llevaría a sugerir que la mayor producción de metano observada por Lana *et al.* (1998) con valores más altos de pH ruminal se podrían deber no a un efecto directo de éste sobre las bacterias metanogénicas, sino más bien sobre la cantidad total de materia fermentada.

En cuanto a la producción de ácidos grasos de cadena larga, a pH 5,5 se observó una desaparición neta de ácido esteárico, que contrasta ($P<0,05$) con la producción neta de dicho ácido graso hallada para los valores de pH de 6,0 y 6,5. Por lo que respecta al C18:1, existe una diferencia numérica manifiesta cuando el pH varía de 5,5 a 6,0, que no alcanza el nivel de significación estadística debido a la alta variabilidad de las medias.

El descenso observado en la producción de esteárico para el pH más bajo, coincide con las observaciones realizadas por Demeyer y Doreau (1999), lo cual podría ser indicativo de una menor biohidrogenación, o bien de un descenso en la lipolisis. Al ser la segunda un prerrequisito para que suceda la primera, no quedaría elucidado si el efecto del pH sería sobre una, otra o ambas. Sin embargo, Kucuk *et al.* (2001) señalan que se ha descrito una baja biohidrogenación en animales comiendo dietas concentradas, coincidiendo con un menor pH.

Aunque no significativo, el acúmulo de C18:1 para el pH más bajo, coincidiendo con una desaparición neta de esteárico, podría ser indicativo de una falta de actividad de las bacterias de tipo B, responsables de la transformación de C18:1 en C18:0; lo cual sugeriría un mayor efecto del pH sobre las bacterias de tipo B que sobre aquellas clasificadas como de tipo A.

Los valores bajos de pH producen una inhibición de la fermentación ruminal, así como un descenso del metabolismo de los ácidos grasos presentes en la ración.

Tabla 1. Efecto del pH sobre la metanogénesis, producción de ácidos grasos volátiles y biohidrogenación de ácidos grasos.

	Valores de pH			
	5,5	6,0	6,5	EED
pH inicial	5,81	6,18	6,48	
pH final	5,25	5,51	6,96	
Producción en 24 horas (μmol)				
Acetato	239[a]	380[b]	397[b]	40,0*
Propionato	62[a]	101[b]	109[b]	11,1*
Butirato	83	90	83	4,6
Hexosas fermentadas (μmol/24 horas)[1]	233[a]	331[b]	336[b]	28,7*
Producción de metano (μmol/24 horas)	124	181	173	31,0
Recuperación de hidrógeno (%)[1]	92	97	89	11,1
Aparición de ácidos grasos (nmol/24 horas)				
C18:0	-180[a]	489[b]	699[b]	113,2**
C18:1	288	28	40	134,6
C18:2	-259	-451	-361	95,4
C18:3	-8	-6	-4	1,6

[1] Calculadas según las ecuaciones propuestas por Demeyer y Van Nevel (1975).
[ab] Medias con superíndices distintos en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas (P<0,05).
EED = Error estándar de la diferencia. * P<0,05; ** P<0,01.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEMEYER, D.I. & DOREAU, M. 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. Proceedings of the Nutrition Society, **58**: 593-607.

DEMEYER, D.I. & VAN NEVEL, C.J. 1975. Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation, and its control. En: *Digestion and metabolism in the ruminant* (eds. McDonald, I.W. & Warner, A.C.I.) The University of New England Publishing Unit, U.S.A.

DOREAU, M. & FERLAY, A. 1994. Digestion and utilisation of fatty acids by ruminants. Animal Feed Science and Technology, **45**: 379-396.

KUCUK, O.; HESS, B.W.; LUDDEN, P.A. & RULE, D.C. 2001. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. Journal of Animal Science, **79**: 2233-2240.

LANA, R.P.; RUSSELL, J.B. & VAN AMBURGH, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, **76**: 2190-2196.

MENKE, K.H. & STEINGASS, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, **28**: 7-55.

EFECTO DE LA DEFAUNACIÓN RUMINAL SOBRE LOS PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN IN VITRO

R. García González [1], C. J. Newbold [2] y S. López [1]
[1] *Dpto. Producción Animal I, Universidad de León. 24071, León*
[2] *Rowett Research Institute. Bucksburn, Aberdeen. AB21 9SB (Reino Unido)*

INTRODUCCIÓN

Una parte de las bacterias metanogénicas del rumen se encuentran asociadas a los protozoos ciliados. El porcentaje del metano generado en el rumen que es producido por estas bacterias metanogénicas ligadas a los protozoos se sitúa entre un 25 y un 50%. La formación de metano es una ruta de captura del hidrógeno generado en la fermentación anaerobia del sustrato. Con dietas ricas en concentrado, los protozoos generan gran parte del hidrógeno que se libera en el rumen, y que queda a disposición de las bacterias asociadas para la formación de metano (Ushida y col, 1997). Se ha sugerido que la defaunación del rumen supondría una pérdida de hábitat para una parte importante de las bacterias metanogénicas y, de esta forma, podría ser considerada como una de las posibilidades para disminuir las emisiones de metano. Existe un interés creciente por disminuir las emisiones de este gas, ya que se lograrían importantes beneficios económicos, productivos y medioambientales.

Este estudio consta de dos pruebas experimentales de fermentación ruminal in vitro. En la primera (prueba A) el objetivo fue la comparación entre inóculos procedentes de ovejas defaunadas y no defaunadas (control) en los parámetros de fermentación. En la segunda (prueba B) se estudió el efecto de la centrifugación del líquido ruminal, como medio para eliminar los protozoos, sobre la fermentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Prueba A: Se dispuso de seis ovejas canuladas en el rumen para obtener el líquido ruminal utilizado como inóculo. Tres de estas ovejas se mantenían defaunadas (la ausencia de protozoos en su contenido ruminal se comprobó al microscopio). Las otras tres ovejas eran mantenidas en condiciones normales (ovejas control). En ambos casos la dieta que consumían, administrada una vez al día, estaba compuesta por una mezcla de heno, cebada grano, soja, melaza y corrector vitamínico-mineral, en proporciones 50:30:10:9:1. La recogida de líquido ruminal se realizó antes de la administración de la comida, filtrándolo a través de dos capas de gasa.

Las fermentaciones se llevaron a cabo en viales de vidrio de 120 ml de capacidad. En cada vial se añadieron 200 mg de un sustrato compuesto por 800 g/kg de un alimento concentrado (mezcla de maíz, cebada y soja) y 200 g/kg de un heno de alfalfa. El líquido ruminal filtrado fue mezclado con el medio de cultivo descrito por Menke y Steingass (1988) en una proporción de 1:2, dosificando en cada vial 30 ml de líquido ruminal diluido. Los viales se cerraron con tapones de goma y cápsulas de aluminio. En todo caso se trabajó bajo condiciones de anaerobiosis gaseando los recipientes utilizados con CO_2.

Una vez sellados, los viales se introdujeron en un baño de agua a 39º C, donde se incubaron durante 24 h con agitación continua. Transcurrido este tiempo se midió el volumen de gases de fermentación acumulados en el espacio de cabeza del vial, utilizando una jeringa graduada de vidrio de 100 ml.

A continuación, se tomó una muestra de 1 ml de estos gases, para analizar su composición en un cromatógrafo de gases. Finalmente, se abrió el vial para tomar una muestra del líquido, medir el pH y determinar la concentración de los ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases.

La prueba se repitió en dos días diferentes, utilizando tres viales para cada oveja y en cada tanda de incubación.

Prueba B: Se utilizó sólo líquido ruminal obtenido de las tres ovejas normales. Parte de este líquido se centrifugó a 1000 x g durante 10 minutos para obtener el sobrenadante libre de protozoos. Así se obtuvo inóculo de cada oveja: de líquido ruminal normal y de líquido ruminal libre de protozoos. La prueba se repitió tres días diferentes, utilizando en cada caso duplicados por cada oveja y tratamiento. Los demás aspectos metodológicos coinciden con los de la prueba A.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la Prueba A se recogen en la Tabla 1.

Tabla 1.- *Parámetros de fermentación ruminal in vitro utilizando como inóculo líquido ruminal de ovejas control o defaunadas.*

PRUEBA A	*Ovejas control*	*Ovejas defaunadas*	*EED*
Producción de gas, ml/d	48,7	53,4	1,86*
CH_4, % en gases	7,51	7,79	0,424
CH_4, µmoles/d	474	509	28,9
AGV, µmoles/d	1261	1395	152,3
Acético, %	66	63	1,9
Propiónico, %	20	19	1,8
Butírico, %	14	10	0,1*
Acético/Propiónico	3,25	3,71	0,520

EED = Error Estándar de la Diferencia.
* Diferencia entre medias estadísticamente significativa (P<0,05)

Puede observarse que no hubo diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre los inóculos obtenidos de ovejas defaunadas y los de ovejas normales en cuanto a la concentración de metano en el gas de fermentación y a la producción de metano y AGV. Sólo se aprecian diferencias significativas (P<0,05) en la producción total de gas y en la proporción de butírico dentro de los AGV.

Esto concuerda con lo que han observado otros autores, que han realizado diversos experimentos en los que se han obtenido resultados variables del efecto de la defaunación de los animales sobre la producción de metano (Hegarty, 1999). Cabe pensar que si bien en principio la eliminación de los protozoos conlleva la desaparición de un hábitat preferido por algunas bacterias metanogénicas, a largo plazo puede producirse una adaptación de estas bacterias para poder prescindir de este hábitat. Esto puede además expiicar los resultados variables recogidos en la bibliografía, que podrían ser función del tiempo transcurrido entre la defaunación del rumen y la recolección del líquido ruminal.

En la Tabla 2 se muestran los resultados de la Prueba B.

Tabla 2.- *Efecto de la eliminación de protozoos en el líquido ruminal mediante centrifugación sobre los parámetros de fermentación in vitro.*

PRUEBA B	*Control*	*Líq. centrifugado*	*EED*
Producción de gas, ml/d	48,0	38,0	1,01*
CH_4, % en gases	6,53	3,65	0,373*
CH_4, µmoles/d	408	213	23,5*
AGV, µmoles/d	1209	967	32,4*
Acético, %	61	54	1,5*
Propiónico, %	23	36	1,9*
Butírico, %	12	9	1,4*
Acético/Propiónico	2,72	1,52	0,135*

EED = Error Estándar de la Diferencia.
* Diferencia entre medias estadísticamente significativa (P<0,05)

La centrifugación del líquido ruminal dio lugar a una menor producción de gas, metano y AGV tras 24 h de fermentación in vitro. La concentración de metano en el gas de fermentación y las proporciones molares de acético y butírico también fueron menores cuando se centrifugó el líquido de rumen, mientras que la proporción molar de propiónico fue mayor con el líquido centrifugado. La formación de acético conlleva la liberación de hidrógeno (Moss y col., 2000), cuya eliminación del medio está disminuida al faltar bacterias metanogénicas. En cambio, la formación de propiónico es una vía de captura de este hidrógeno, con lo que su formación se favorece cuando faltan otras rutas, como la metanogénesis (Moss y col., 2000).

Se aprecia además una disminución en la actividad fermentativa ya que, además de faltar la actividad de los protozoos, la centrifugación podría suponer la eliminación del medio de algunas de las bacterias de mayor tamaño. Cabe esperar una falta de adaptación de la población microbiana usada como inóculo ya que, cualitativamente, es una parte de la que se usó como control.

No obstante, al centrifugar el inóculo la reducción en la producción de metano (–48%) fue, comparativamente y en términos relativos, mayor que la observada en otros parámetros de fermentación (–21% de gas y –20% de AGV), lo que parece confirmar la importante contribución de las bacterias metanogénicas ligadas a los protozoos a la cantidad total de metano producida durante la fermentación. En cualquier caso, los resultados de la prueba A sugieren que con la defaunación, a largo plazo, no se logra una disminución significativa de las emisiones de este gas por los rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hegarty R. S. 1999. Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 1321-1327.

Menke K. H. y Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28: 7-55.

Moss A. R., Jouany J. P. y Newbold C. J. 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49: 231-253.

Ushida K., Tokura M., Takenaka A. e Itabashi H. 1997. Ciliate protozoa and ruminal methanogenesis. En "*Rumen Microbes and Digestive Physiology in Ruminants*" (Ed. R. Onodera y col.), pp.: 209-30. Japan Scientific Societies Press. Tokio.

EFECTOS DE pH, TEMPERATURA Y DOSIS DE INCLUSIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA DE PRODUCTOS COMERCIALES CON ENZIMAS FIBROLÍTICOS

E. González, E. Albanell, G. Caja y R. Casals
Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments.
Facultat Veterinaria, Univ. Autónoma de Barcelona (UAB), Bellaterra 08193, Barcelona

INTRODUCCIÓN

Existe poca información sobre los mecanismos de acción y las condiciones productivas en las que pueden ser efectivas la adición de enzimas fibrolíticas exógenas en la alimentación de rumiantes, siendo por tanto necesarias investigaciones básicas que abunden sobre las condiciones más favorables en las cuales su uso resulte más efectivo en la mejora de los indicadores de digestibilidad y respuesta animal.

Cada enzima requiere de valores específicos de pH y temperatura (o sus rangos) para expresar su óptima actividad. Estos factores son de importancia primordial cuando se selecciona para un determinado proceso industrial (Uhlig, 1998) con el objetivo de lograr operar con el máximo de eficiencia enzimática. Desde que Michaelis y Menten (1913), pusieran de manifiesto que el factor que controla la actividad catalítica es el número y distribución de las cargas sobre la molécula enzimática, ningún trabajo sobre las propiedades de un nuevo enzima está completo si no contiene el perfil de actividad en función del pH.

Por otra parte, fuera del rango de las temperaturas óptimas, las enzimas pueden ser desnaturalizadas. La temperatura a la cual la inactivación comienza es característica para cada enzima. Los rangos óptimos de temperatura para una enzima son aquellos en los cuales la enzima se mantiene lo suficientemente estable. Los procesos de aplicación de los productos enzimáticos al alimento en la industria, así como el ambiente propio del rumen, llevan implícitos fases en las cuales la temperatura puede ser un factor limitante de la actividad enzimática.

El presente trabajo pretende realizar una aproximación al estudio del pH, la temperatura y la dosis de inclusión como factores abióticos que pudieran estar determinando la actividad enzimática esperada de productos fibrolíticos comerciales para su uso en ganadería.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron las actividades enzimáticas de los productos Promote® y Cellupract® ante:

3 Dosis de inclusión de cada producto enzimático (1, 2 y 3 g/kg de materia seca, MS)
3 Niveles de pH del medio (4.0, 5.5 y 6.5)
4 Temperaturas de incubación (30, 40, 50 y 70ºC)

Las concentraciones de azúcares reductores se determinaron por el método de Nelson-Somogyi (Somogyi, 1952) con la glucosa como patrón.

Los productos enzimáticos usados son aditivos de alimentos registrados para su uso en las raciones para el ganado y disponibles comercialmente: Promote® (Agribrands International Inc., St. Louis, MO) y Cellupract®AL 100 (BIOPRACT GMBH,

Berlín, Alemania); ambos con actividad celulasa y xilanasa y con actividades amilasas despreciables.

La unidad de actividad enzimática (AE) fue definida como la cantidad de enzima que cataliza la liberación de 1 μmol de azúcar reductor equivalente por minuto, bajo las condiciones de incubación estandarizadas y de estimación descritas. El cálculo de dicha unidad se efectuó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad (AE/mg)} = MxFD \,/\, t \times m$$

Donde: M = μmol glucosa liberados, determinados de la curva patrón; FD = Factor de dilución; T = tiempo de incubación en minutos; m = mg enzima usados en el ensayo

Los datos fueron analizados mediante el procedimiento GLM de SAS (1996) teniendo en cuenta el efecto de cada una de las variables en estudio y sus interacciones sobre la variación de la actividad enzimática de cada producto comercial evaluado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron diferencias entre los 2 productos para las diferentes condiciones estudiadas ($P > 0.05$), registrándose tendencias similares en todos los casos (Figura 1).

La dosis de inclusión no mostró diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.494$) aunque la tendencia gráfica fue a incrementar la AE de forma lineal con la cantidad de producto aplicado.

El comportamiento de los 2 productos enzimáticos al ser incubados a diferentes temperaturas (30, 40, 50 y 70°C) mostró diferencias ($P < .0001$) observándose una estimulación de la actividad catalítica a 50°C con posterior inhibición a 70°C.

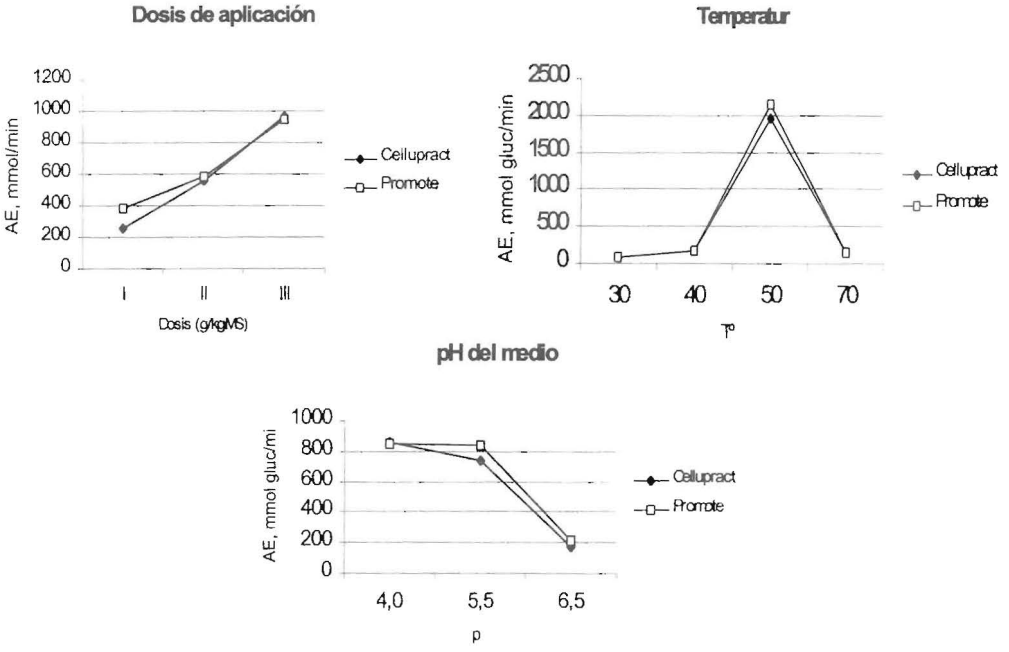
En cuanto al pH, las diferencias observadas ($P < 0.043$) mostraron mejores valores de AE a pH 4.0 y una disminución al aumentar la basicidad del medio (Figura 1). Una explicación a este fenómeno pudiera venir de la comparación del pH óptimo de las enzimas fibrolíticas exógenas producidas por los microorganismos ruminales con el pH óptimo de enzimas fibrolíticas exógenas producidas por hongos aeróbicos (productos). Está bien documentado que el crecimiento de bacterias fibrolíticas es inhibido (Russell y Dombrowski, 1980), y que la digestión de la fibra es severamente comprometida (Hoover *et al.*, 1984) cuando el pH cae por debajo de 6.2. La mayoría de las enzimas fibrolíticas producidas por los microorganismos ruminales funcionan óptimamente a valores de pH por encima de 6.2 (Matte y Forsberg, 1992). Por el contrario, el pH óptimo de las enzimas fibrolíticas producidas por hongos aeróbicos típicamente se comporta en el rango de 4.0 a 6.0 (Gashe, 1992). El pH ruminal puede estar por debajo de 6.0 en un período significativo del transcurso del día en el ganado vacuno lechero (Yang *et al.*, 1999) y de carne (Krause *et al.*, 1998). Bajo estas condiciones, las enzimas exógenas pudieran contribuir significativamente a la digestión ruminal de la fibra.

De las interacciones evaluadas, temp:pH ($P < 0.027$) evidenció diferencias significativas entre sus diversas combinaciones, lógicamente explicado por los efectos individuales de ambos parámetros por separado; por otra parte, dosis:temp mostró una

tendencia estadística a afectar la AE ($P > 0.131$) mientras que las combinaciones de dosis:pH no resultaron relevantes ($P > 0.98$).

En conclusión, la temperatura de incubación y el pH del medio demostraron ser factores determinantes en las actividades celulolíticas de los productos evaluados. Resulta interesante además, las diferencias entre los mejores comportamientos en las condiciones del estudio y los parámetros óptimos normales del rumen para la digestión de la fibra.

Figura 1. Efectos de la dosis de aplicación, temperatura, pH sobre la actividad enzimática de productos comerciales (µmol de glucosa liberados/minuto)



AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte del proyecto AGL2001-2617 financiado por la CICYT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gashe BA. 1992.. J. Appl. Bacteriology 73, 79-82.

Hoover WH, Kincaid CR, Varga GA, Thayne WV, Junkins LL. 1984. J.Anim.Sci. 58, 692.

Krause OG, Richardson RY, Cobb CO. 1998. J. Anim. Sci. 67, Suppl. 1, 280.

Matte A, Forsberg CW. 1992. Appl. Environ. Microb. 58, 157-168.

Michaelis L, Menten ML.1913. Biochem Z. 49, 333-369.

Russell JB, Dombrowski DB. 1980. Appl. Environ. Microb. 39, 606-610.

SAS, 1996. SAS User's Guide. SAS Institute, Cary, NC, USA.

Somogyi M. 1952. J. Biol. Chem. 195, 19-23.

Uhlig H. 1998. Industrial enzymes and their applications. John Wiley & Sons, Inc.

Yang WZ, Beauchemin, KA, Rode LM 1999. J. Dairy Sci. 82, 391-403.

DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE FORRAJES: EFECTO DEL TRATAMIENTO CON ENZIMAS FIBROLÍTICAS

M.D. Carro[1], M.J. Ranilla[1], A.H. Mohamed[2] y M.L. Tejido[1]

[1] Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León

[2] Animal Production Research Institute (APRI), Agricultural Research Center, Nady El-Said st., Dokki, Giza, P.O. Box 443, Egipto

INTRODUCCIÓN

Los complejos enzimáticos se utilizan con mucha frecuencia como aditivos en los piensos de los animales monogástricos, pero no se usan en la alimentación de los animales rumiantes. En estos animales, la actividad fibrolítica del medio ruminal es normalmente muy alta, y por ello tradicionalmente se ha asumido que no puede ser aumentada de forma significativa. Sin embargo, en los últimos años se han realizado numerosos estudios para investigar la posibilidad de utilizar enzimas fibrolíticas para mejorar el valor nutritivo de los forrajes, aunque los resultados obtenidos han sido contradictorios (Carro y Ranilla, 2001). Algunos de estos resultados (Morgavi *et al.*, 2000) parecen indicar que las enzimas fibrolíticas pueden aumentar la degradación del alimento y su utilización cuando las condiciones ruminales son desfavorables para la degradación de la fibra, como es el caso de los animales que reciben raciones con un elevado porcentaje de concentrados. En estos animales el pH ruminal desciende hasta valores inferiores a los óptimos para la actividad de las bacterias celulolíticas, de tal forma que se produce una disminución de la degradación de la fibra de los alimentos. Debido a que en algunos estudios (Yang *et al.*, 1999) se ha observado que el tratamiento de los forrajes con enzimas fibrolíticas puede favorecer la colonización microbiana de los mismos y aumentar así su degradación en las fases iniciales de la misma, en este trabajo nos planteamos analizar el efecto de tres preparaciones enzimáticas sobre la digestibilidad *in vitro* de tres forrajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se utilizaron como sustratos heno de alfalfa, heno de gramíneas y ensilado de maíz, y su composición química figura en la Tabla 1. Las muestras de cada forraje se molieron (1 mm) antes de determinar su digestibilidad *in vitro* tras la incubación con líquido ruminal. Las muestras (250 mg de materia seca (MS)) se pesaron en bolsitas de material sintético poroso, que se introdujeron en recipientes de vidrio de 4 l de volumen, a los que se añadieron 2 l de una mezcla 1:4 (v:v) del líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1979). Dicho medio fue modificado mediante la adición de ácido transaconítico para reducir su pH a 6,0, e intentar así provocar condiciones no óptimas para la acción de la flora celulolítica ruminal. Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen que recibían heno de alfalfa *ad libitum*. El incubador utilizado (Daisy II; Ankom Technology Corporation) disponía de 4 recipientes, y cada uno de ellos fue asignado a uno de los siguientes cuatro tratamientos: forrajes sin tratar (control; **CON**), tratamiento con una celulasa procedente de *Aspergillus niger* (Fluka; **CEL**),

Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Junta de Castilla y León (Proyecto LE38/01). M. J. Ranilla disfruta de un contrato de investigación del MCYT (Programa Ramón y Cajal).

tratamiento con una xilanasa aislada de microorganismos ruminales (Megazyme International Ireland Ltd.; **XIL**) y tratamiento con una mezcla 1:1 de las dos enzimas anteriores (**MEZ**). En todos los casos, las enzimas se disolvieron en un buffer fosfato sódico 1 mM (ph 6,5) y se aplicaron directamente sobre los forrajes a una concentración de 10 UI por g de MS de forraje. La aplicación de las soluciones enzimáticas se realizó 24 h antes de comenzar la incubación *in vitro* con líquido ruminal, y durante este tiempo los forrajes se mantuvieron en el laboratorio a temperatura ambiente (20-22ºC). En cada uno de los 4 recipientes del incubador se introdujeron 6 bolsitas de cada forraje; dos de estas bolsitas se extrajeron tras 6 h de incubación, otras dos tras 12 h, y las dos restantes a las 24 h tras el inicio de la incubación. Las bolsitas se lavaron con agua fría para detener la fermentación y en el residuo se analizó su contenido en FND para estimar la digestibilidad *in vitro* verdadera de los forrajes (DIV). Además, en cada una de las extracciones se tomó una muestra del medio de cultivo y se midió inmediatamente su pH. En total se realizaron cuatro incubaciones en días diferentes, para obtener ocho réplicas por tratamiento. Para cada forraje, el efecto del tratamiento con enzimas sobre su DIV se determinó mediante análisis de varianza, y se analizaron los siguientes contrastes: C1: **CON** *vs* **CEL**, **MEZ** y **XIL**; C2: **CEL** *vs* **MEZ** y **XIL**; C3: **MEZ** *vs* **XIL**.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de los forrajes

Forraje	Materia orgánica	Proteína bruta	Fibra neutro detergente	Fibra ácido detergente
Heno de alfalfa	926	207	427	313
Ensilado de maíz	954	90	465	256
Heno de gramíneas	922	106	564	313

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los efectos de las preparaciones enzimáticas sobre la DIV de los forrajes y el pH del medio de cultivo se muestran en la Tabla 2. En el caso del heno de alfalfa se observó que el tratamiento con enzimas mostró una tendencia ($P<0,10$) a aumentar su DIV tras 24 h de incubación, pero no se observaron diferencias a las 6 y 12 h de incubación. Por el contrario, el tratamiento con enzimas tendió ($P<0,10$) a aumentar la DIV del ensilado de maíz tras 6 h de incubación, pero estas diferencias desaparecieron en tiempos de incubación más largos. En cuanto al heno de gramíneas, su tratamiento con celulasa aumentó de forma significativa ($P<0,05$) su DIV tras 6 y 12 h de incubación respecto a los valores observados con los tratamientos **MEZ** y **XIL**, pero estas diferencias desaparecieron tras 24 h de incubación en líquido ruminal. Estos resultados podrían indicar que el tratamiento con enzimas, especialmente con celulasa, favoreció la degradación inicial del heno de gramíneas, pero no ejerció un efecto significativo sobre la degradación del heno de alfalfa y del ensilado de maíz.

Morgavi *et al.* (2000) analizaron el efecto de enzimas fúngicos procedentes de *Trichodema longibrachiatum* sobre la degradabilidad *in vitro* del ensilado de maíz a valores de pH de 6,5, 6,0 y 5,5. La adición de estas enzimas no tuvo efecto sobre la degradabilidad del ensilado a valores de pH óptimos para el normal funcionamiento de la flora ruminal celulolítica (pH 6,5), pero aumentó significativamente la degradabilidad de la materia seca del ensilado a pH 5,5 y 6,0 (en un 35 % y un 40 %, respectivamente). En nuestro experimento el pH del medio de incubación en el momento de su inicio fue de 6,0 en todas las pruebas, pero la fuerte capacidad amortiguadora del medio de Goering y Van Soest (1970) hizo que

transcurridas 6 horas de incubación el pH se elevara a valores adecuados para esta actividad fibrolítica y que se mantuviera en ellos durante el resto de la incubación (ver Tabla 2). Es posible que este hecho contribuyera a que no se detectase un efecto claro del tratamiento con enzimas fibrolíticas sobre la DIV de los forrajes. Sin embargo, también es posible que las enzimas y/o la dosis elegidas para este estudio no fuesen las más adecuadas para el tratamiento de los forrajes seleccionados. En resumen, el tratamiento de forrajes con enzimas fibrolíticos en las condiciones (tipo de enzimas, dosis, pH ruminal) en que se realizaron estas pruebas no parece ser un método útil para aumentar su digestibilidad.

Table 2. Efecto del tratamiento enzimático sobre la digestibilidad *in vitro* (%) de varios forrajes tras 6 (DIV6), 12 (DIV12) y 24 (DIV24) h de incubación en líquido ruminal, así como sobre el pH d el medio de incubación

	Tratamiento[1]					Signif. estadística (P=)[1]		
	CON	**CEL**	**MEZ**	**XIL**	e.e.d.	C1	C2	C3
Heno de alfalfa								
DIV6	59,3	59,5	59,3	59,5	0,88	NS	NS	NS
DIV12	62,9	62,8	63,0	62,9	0,75	NS	NS	NS
DIV24	71,5	73,0	71,7	73,0	1,01	NS†	NS	NS†
Heno de gramíneas								
DIV6	48,4	49,8	48,7	49,0	0,51	0,007	0,024	NS
DIV12	52,8	53,6	52,8	52,1	0,67	NS	0,009	NS
DIV24	69,2	71,3	69,9	70,0	1,81	NS	NS	NS
Silo de maíz								
DIV6	61,9	62,7	62,7	62,5	0,67	NS†	NS	NS
DIV12	62,4	63,1	63,0	62,5	0,60	NS	NS	NS
DIV24	72,4	73,0	72,1	72,8	1,09	NS	NS	NS
pH								
6 h	6,46	6,46	6,44	6,47	0,028	NS	NS	NS
12 h	6,58	6,58	6,59	6,60	0,009	NS	NS	NS
24 h	6,69	6,70	6,71	6,70	0,014	NS	NS	NS

[1] Tratamientos: **CON**: control; **CEL**: celulasa; **MEZ**: mezcla 1:1 celulasa:xilanasa; **XIL**: xilanasa

[2] Contrastes, C1: **CON** *vs* tratamientos enzimáticos; C2: **CEL** *vs* **MEZ** y **XIL**; C3: **MEZ** *vs* **XIL**

e.e.d.: error estándar de la diferencia; NS: P>0,05; NS†: P<0,10

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro MD y Ranilla MJ. 2001. Las enzimas como aditivos en la alimentación de los animales rumiantes. *Mundo Ganadero*, 134 (junio): 62-67.

Goering MK y Van Soest PJ. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv.*, USDA. Washington DC.

Morgavi DP, Nsereko VL, Rode LM, Beauchemin KA, McAllister TA, Wang Y, Iwaasa AD y Yang WZ. 2000. Feed enzymes increase the potential of rumen microorganisms to degrade fibrous feeds at low pH. 3rd European Symposium on Feed Enzymes - Noordwijkerhout, Holanda. 8-10 mayo.

Yang WZ., Beauchemin KA y Rode LM. 1999. Effects of enzyme feed additives on extent of digestion and milk production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76 (Suppl. 1): 320.

EFECTO DEL TRATAMIENTO DE HENO DE ALFALFA CON QUEBRACHO SOBRE SU DIGESTIBILIDAD EN EL GANADO CAPRINO

A.Z.M. Salem, J.S. González, S. López , M.J. Ranilla y S. Andrés
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León[1]

INTRODUCCIÓN

La capacidad de los rumiantes de utilizar recursos forrajeros se ve, en muchos casos, limitada por la presencia en este tipo de alimentos de factores antinutritivos entre los que los taninos condensados ocupan un lugar destacado (Ramos *et al.*, 1998).

Los efectos de los taninos son variables en función de una serie de circunstancias, pero, con mucha frecuencia, se traducen en una reducción del valor nutritivo de los alimentos.

Las diferentes especies de rumiantes, en particular los rumiantes salvajes, han desarrollado diversos mecanismos para contrarrestar estos efectos negativos. Dentro de las especies de rumiantes domésticas, el ganado caprino ha demostrado una mayor capacidad para adaptarse al consumo de dietas con contenidos relativamente elevados en este tipo de compuestos (Silanikove, 2000).

En este trabajo se estudia el efecto de la adición de quebracho sobre la digestibilidad de un heno de alfalfa por el ganado caprino, y se analiza la persistencia de dicho efecto durante 70 días tras el inicio en la administración del heno tratado con quebracho.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 cabras de raza Alpina de 53,2±2,51 kg de peso. Los animales se dividieron en dos grupos de cuatro animales cada uno y de peso similar, grupo **A** o alfalfa y grupo **Q** o alfalfa tratada con quebracho. Todos los animales se alojaron en jaulas individuales en una nave con iluminación permanente, y recibieron durante los primeros 15 días heno de alfalfa (168 g PB, 503 g FND y 71 g lignina por kg MS) picado administrado en una sola toma al día y a un nivel de 20 g MS/kg PV, disponiendo de agua y de un corrector vitamínico-mineral a voluntad. Transcurrido este periodo de adaptación a la dieta, nivel de ingestión y condiciones experimentales, los animales del grupo **Q** comenzaron a recibir heno de alfalfa tratado con quebracho comercial (Roy Wilson Dickson Ltd., Reino Unido) en una proporción de 50 g de quebracho por kg de MS de alfalfa. Para el tratamiento de la alfalfa, el quebracho se disolvió en agua (250 g/l agua), y la disolución se aplicó sobre el heno inmediatamente antes de la administración del alimento a los animales. En el caso de los animales del grupo **A**, al heno de alfalfa se añadieron 200 ml de agua por kg de MS, empleando en ambos casos un pulverizador.

Para las pruebas de digestibilidad los animales se alojaron en jaulas metabólicas, midiéndose, durante periodos de siete días, el alimento ingerido y las heces excretadas. Estas pruebas se realizaron en cada animal en tres periodos distintos, definidos por el intervalo de tiempo transcurrido desde el inicio de la administración de la dieta **Q**, el cual fue de 10 días para la primera prueba (**P1**), 39

[1] Proyecto C.I.C.Y.T AGF98-0874

días para la segunda (**P2**) y 69 días para la tercera y última (**P3**). De esta forma se pretendía analizar si el posible efecto del tratamiento con quebracho sobre la digestibilidad del heno se mantenía a lo largo del tiempo.

Durante las pruebas de digestibilidad se tomaron muestras del heno ofrecido, de los rehusados recogidos diariamente y de las heces, que fueron desecadas en estufa a 60°C para la determinación de la MS. Su contenido de PB fue determinado siguiendo los procedimientos descritos por la AOAC (1990). Las determinaciones de la fibra neutro detergente (FND) se llevaron a cabo siguiendo la metodología de Goering y Van Soest (1970).

Los resultados obtenidos fueron analizados por ANOVA siguiendo un diseño split-plot considerando las dietas (**A** y **Q**) como plot principal y los periodos experimentales (**P1, P2, y P3**) como subplot (SAS,1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todos los animales se adaptaron de forma adecuada tanto a las dietas como a las condiciones experimentales.

El tratamiento del heno de alfalfa con el quebracho no determinó una reducción en la digestibilidad de la MS (DMS) y de la FND (DFND), siendo los valores medios de los correspondientes coeficientes de digestibilidad de 65,86 vs. 63,49; y 55,97 vs. 53,06 para las dietas **A** y **Q**, respectivamente. Por el contrario, la digestibilidad de la PB (DPB) se redujo de forma estadísticamente significativa (76,24 vs. 70,45; $P<0,01$).

De idéntica manera, los coeficientes de digestibilidad de la MS y de la FND no se vieron afectados por el periodo experimental, obteniéndose los valores de 63,07; 65,52 y 65,43 para la DMS y de 53,02; 56,28 y 53,97 para la DFND y los periodos **P1**, **P2** y **P3**, respectivamente; mientras que, en el caso de la digestibilidad de la PB se observó un incremento progresivo, alcanzándose los valores de 69,55; 74,01 y 76,47 ($P<0,001$).

Esta evolución en los valores de los coeficientes de digestibilidad fue debida a cambios en los resultados obtenidos en los animales que consumían la dieta Q, ya que los coeficientes de digestibilidad de la dieta A no se vieron afectados, de forma sistemática, por el periodo experimental. Este hecho se pone claramente de manifiesto en los datos presentados en la Tabla 1.

Las diferencias entre la alfalfa control y la tratada en los valores de los coeficientes de digestibilidad se fueron reduciendo o incluso cambiando de signo a medida que los animales llevaban más tiempo consumiendo la dieta Q, de tal forma que en el P3 todos los coeficientes de digestibilidad fueron superiores en los animales que consumían la dieta **Q**, aunque las diferencias solamente alcanzaron el nivel de significación estadística ($P<0,05$).en el caso de la MS.

La disminución de la digestibilidad de la dieta **Q** es una consecuencia de la formación de complejos de los taninos condensados con las macromoléculas, que incidiría negativamente tanto sobre su fermentación ruminal como sobre su digestión post-ruminal (Butter *et al.*,1999).

La evolución de los valores de los coeficientes de digestibilidad parece indicar una capacidad de adaptación digestiva del ganado caprino al consumo de taninos superior a la observada en el ganado ovino (Dawson *et al.* 1999; Salem *et al.* 2001).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Silanikove *et al.* (1996) que pusieron de manifiesto la capacidad del ganado caprino de tolerar niveles relativamente elevados de taninos en la dieta.

Tabla 1.- Coeficientes de digestibilidad de la MS (DMS), PB (DPB) y FND (DFND) para las dos dietas experimentales y los tres periodos

	Dieta (D)	Periodos (P)			±EEM y nivel de significación		
		P1	P2	P3	D	P	D×P
DMS	A	65,86 ^{ab}	68,03 ^{a}	63,68 ^{b}	±0,750	±0,805	±1,090
	Q	60,29 $^{b\#}$	63,00 $^{b\#}$	67,17 $^{a\#}$	ns	ns	**
DPB	A	75,81	77,28	75,64	±0,816	±0,762	±1,071
	Q	63,29 $^{c\#}$	70,74 $^{b\#}$	77,31 ^{a}	**	***	***
DFND	A	56,38	58,55	53,00	±1,321	±1,297	±1,825
	Q	49,67 $^{b\#}$	52,92 ^{ab}	56,61 ^{a}	ns	ns	*

EEM = Error Estándar de la Media. Valores con distintos superíndices en la misma fila o con $^{\#}$ en la misma columna y concepto difieren significativamente (P<0,05); ns: no significativo; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 16th ed. AOAC International, Arlington, USA.

Butter, N.L., Dawson, J.M. y Buttery, P.J. (1999). Effects of dietary tannins on ruminants. En *Secondary Plant Products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding* (Eds. J.C. Caygill y I. Müller-Harvey), pp. 51-70. Nottingham Univ. Press, Nottingham.

Dawson, J.M., Buttery, P.J., Jenkins, D., Wood, C.D. y Gill, M. (1999). *J. Sci. Food Agric.* **79**: 1423-1430.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. (1970). *Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures and some Applications)*. USDA Handbook No. 379, Washington DC USA.

Ramos, G., Frutos, P., Giráldez, F.J. y Mantecón, A.R. (1998). *Arch. Zootec.* **47**: 597-620

Salem, A.Z.M., González, J.S., López, S., Ranilla, M.J. y Andrés, S. (2001). *ITEA*, Volumen Extra **22**: 328-330.

SAS (1988). SAS/STAT® *User's Guide (Release 6.03)*. Cary, NC: SAS Inst. Inc.

Silanikove, N. (2000). *Small Ruminant Res.* **35**: 181-193.

Silanikove, N., Gilboa, N., Perevolotsky, A. y Nitsan, Z. (1996). *Small Ruminant Res.* **21**: 195-201.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 687-689

DEGRADACIÓN RUMINAL DE FUENTES PROTEICAS DE ORIGEN VEGETAL ESTIMADA *IN SITU* EN TERNERAS EN CEBO INTENSIVO

Rotger, A., Martínez, J., Ferret, A., Calsamiglia, S. y Manteca, X.
Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona.
08193 Bellaterra, Barcelona.

INTRODUCCIÓN

En España se producen anualmente alrededor de 600.000 toneladas de carne de vacuno (MAPA 2002). La mayor parte de esta producción se produce en cebaderos intensivos, en los que la alimentación junto con la compra de los animales representan el 90% del coste total de producción (Febas y col., 1997). En estos cebaderos se produce la denominada carne rosada, cuya característica más notable radica en el cebo intensivo de los animales, con un régimen alimenticio basado en el uso de pienso y paja *ad libitum*, desde el destete hasta el sacrificio. La relación forraje:concentrado de las dietas que reciben estos animales suele ser alrededor del 10:90. En este tipo de rúmenes las características fermentativas y degradativas son diferentes a las de animales que reciben dietas mucho más forrajeras y en las que están basadas la mayoría de las recomendaciones de los distintos sistemas de formulación.

Uno de los aspectos más importantes al formular dietas para el engorde de terneros de forma intensiva es el contenido y la naturaleza de la proteína aportada. Después de la prohibición europea de la utilización de fuentes proteicas de origen animal, el interés se centra en buscar fuentes proteicas alternativas de origen vegetal y estudiar su cinética de degradación ruminal directamente en rúmenes equivalentes a los que luego recibirán estos ingredientes y dar, con ello, recomendaciones prácticas para el sector.

El objetivo de este trabajo fue el de estudiar las cinéticas de degradación de la proteína de distintas fuentes proteicas de origen vegetal, en uso en la industria de fabricación de piensos para terneros o que pueden serlo en el futuro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 terneras de raza Holstein con un peso vivo de 336,1 kg y provistas de cánula ruminal. Las terneras recibían una ración altamente concentrada, con una relación forraje: concentrado del 10:90, siendo el forraje paja de cebada. La dieta contenía 86,90 % de MS, 15,26 % de PB y 20,46 % de FND sobre MS. Se administraba *ad libitum* en forma de TMR, una sola vez al día, y ofertada individualmente a nivel de un 15 % por encima del consumo del día anterior.

Se estudiaron 10 suplementos proporcionados por cooperativas ganaderas, empresas de fabricación de piensos o bancos de semillas. Los suplementos fueron dos subproductos de la industria de extracción de aceite, torta de soja y torta de girasol integral, y ocho leguminosas grano, guisante (*Pisum sativum*), altramuz (*Lupinus sp.*), haba (*Vicia faba*), haba caballar (*Vicia faba var. equina*), veza (*Vicia sativa*), yero (*Vicia ervilia*), almorta (*Lathyrus sativus*) y alholva (*Trigonella foenum-graecum*). La composición química de los suplementos fue obtenida después de pasar las muestras por un molino de martillos y una criba de 0,8 mm (Tabla 1).

Tabla 1: Composición química (sobre MS) de los suplementos proteicos.

	% MS	% MO	% PB	% FND
Torta de soja	86,99	87,39	49,06	12,08
Torta de girasol	90,57	83,33	33,78	37,84
Alholva	86,71	85,63	30,39	38,73
Almorta	85,94	85,53	28,29	10,97
Altramuz	91,20	88,58	34,37	23,87
Guisante	87,43	91,04	22,97	8,29
Haba	88,24	85,45	27,88	19,57
Haba caballar	88,94	85,88	29,93	22,18
Veza	89,63	86,62	27,82	14,92
Yero	86,83	84,65	30,79	9,24

Para la realización del estudio *in situ*, los suplementos proteicos se molieron con una criba de 3 mm. Una muestra de 1,5 g en MF (1 g para la soja) se pesó dentro de una bolsa de nylon monofilamento (10 x 5 cm) y con un tamaño de poro de 50 μm. Las bolsas se sellaban y una bolsa de cada suplemento se ataba a una cuerda de unos 50 cm y se incubaban en el rumen durante 2, 4, 8, 12, 24, 36 y 48 horas. Para cada hora de incubación se introducían también bolsas vacías que actuaban como blancos. Antes de introducirlas en el rumen se dejaban en remojo durante 30 minutos en agua tibia.

Al transcurrir el tiempo de incubación, las bolsas se lavaban en agua fría en una lavadora (tres ciclos de 5 minutos) y se secaban a 103 °C durante 24 horas. La hora cero o pérdidas por lavado, se determinaban dejándolas en remojo antes de la incubación y lavándolas posteriormente como a las bolsas incubadas. Esta cinética se repitió 2 veces en cada ternera, para tener 8 (4 x2) replicados de cada muestra y hora. Se determinó el contenido proteico (N x 6,25) de los residuos de las bolsas por el método Kjeldhal. Las constantes de degradación se obtuvieron mediante ajuste al modelo matemático propuesto por Ørskov y McDonald (1979), usando el procedimiento NLIN del SAS. La degradabilidad efectiva se calculó asumiendo un ritmo de paso del 0,06/h.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de las constantes de degradación ruminal de los diferentes suplementos proteicos de origen vegetal se presentan en la Tabla 2. Los valores expuestos representan: *a* la fracción soluble, *b* la fracción insoluble pero potencialmente degradable, *c* la velocidad de degradación y *DE* la degradabilidad efectiva de la proteína bruta.

Entre los diferentes suplementos proteicos estudiados podemos observar grandes diferencias en los parámetros de degradación. Los suplementos con una fracción soluble más pequeña fueron la torta de soja y la alholva, siendo las habas, la almorta y los yeros los que presentaron valores más elevados. Con la fracción potencialmente degradable ocurrió lo contrario, ya que los valores más bajos fueron los de las habas, la almorta y los yeros y los más altos los de la torta de soja y la alholva.

El conocimiento de la degradabilidad de una proteína, así como de la velocidad de degradación de las fuentes proteicas que se incluyen en una ración, es

importante para evitar problemas de sincronización con la degradación de las fuentes energéticas, lo que puede provocar una ineficiencia en la síntesis de proteína microbiana.

Tabla 2.- Constantes de degradación ruminal de la proteína bruta, siendo a la fracción soluble, b la fracción insoluble pero potencialmente degradable, c la velocidad de degradación y DE la degradabilidad efectiva.

	a, %	b, %	c, /h	DE, %
Torta de soja	17,55	81,34	0,075	62,77
Torta de girasol	28,55	62,49	0,277	79,93
Alholva	14,45	82,03	0,077	60,62
Almorta	48,03	57,82	0,049	74,01
Altramuz	31,8	69,39	0,071	69,35
Guisante	43,89	63,97	0,045	71,29
Haba	61,03	41,1	0,052	80,15
Haba caballar	48,31	53,79	0,057	74,47
Veza	37,64	60,56	0,072	70,67
Yero	48,96	53,06	0,054	73,99

Las velocidades de degradación más lentas se obtuvieron en el guisante y la almorta, encontrándose la torta de girasol integral en el extremo opuesto. Con todo ello, las degradabilidades efectivas de los suplementos proteicos se escalonaron y agruparon de la siguiente manera: a) entre el 60 y el 65%, la alholva y la torta de soja; b) entre el 65 y el 70%, altramuz y veza; c) entre el 70 y el 75%, guisante, yeros, almorta y haba caballar; y d) entre el 75 y el 80%, torta de girasol y habas. La degradabilidad efectiva de la proteína depende de la dieta consumida, siendo inferior en terneros que reciben una dieta altamente concentrada (Devant y col. 2000), por lo que es recomendable utilizar, para el cálculo de las recomendaciones proteicas de terneros en cebo intensivo, valores de DE obtenidos en animales que reciben dietas muy concentradas. Sería un error incluir, para la estimación de los aportes de proteína metabolizable, valores de degradabilidad de las tablas aportadas por los sistemas de racionamiento (INRA, AFRC y NRC) que han sido obtenidos en un medio que no corresponde al de los terneros que se van a alimentar.

AGRADECIMIENTOS

Esta trabajo ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL2000-0352.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Devant, M., Ferret, A., Gasa, A., Calsamiglia, S. and Casals, R. 2000. J. Anim. Sci. 78: 1667-1676.

Febas, P., Milán, M. J., Gasa, J., Mora, J. M. Y Ferret, A. 1997. ITEA Vol. 18 (tomo II) 791-793.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. 2002. M.A.P.A., Madrid.

Ørskov, E.R. y I. McDonald. 1979. J. Agric. Sci. 92:499-503.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 690-692

UTILIZACIÓN DE PROTEASA DE *STREPTOMYCES GRISEUS* PARA LA ESTIMACIÓN DE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LA PROTEÍNA DE PIENSOS COMPUESTOS Y MEZCLAS

F. Vicente, B. de la Roza, S. Modroño, A. Martínez, A. Argamentería
Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA)
Apdo. 13; 33300 Villaviciosa (Asturias)

INTRODUCCIÓN

Los nuevos sistemas de valoración proteica de los alimentos consideran de importancia conocer la proporción de proteína degradable en el rumen. Con este fin, se ha venido utilizando tradicionalmente la técnica de incubación *in situ*. Ésta precisa mantener animales intervenidos quirúrgicamente, que necesitan períodos de adaptación a los ensayos, y tiene la limitación física de no poder valorar simultáneamente un elevado número de muestras, por lo que es poco viable para su aplicación rutinaria a gran escala. Para obviar este problema se han diseñado diferentes métodos enzimáticos para estimar la degradabilidad de la proteína (Stern *et al.*, 1997). Dichas técnicas presentan la ventaja de ser completamente independientes del efecto animal, precisan una menor cantidad de muestra y permiten valorar conjuntamente un elevado número de alimentos. Sin embargo, no todas ellas han sido validadas suficientemente con los resultados obtenidos en ensayos *in situ*.

Este trabajo estudia la posibilidad de predecir la degradabilidad efectiva de la proteína bruta de piensos compuestos y mezclas alimenticias, utilizados habitualmente en la Cornisa Cantábrica, a partir de los resultados obtenidos mediante su incubación con proteasa de *Streptomyces griseus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se ha llevado a cabo con piensos compuestos (n=11) y mezclas alimenticias (n=8) utilizados frecuentemente por los ganaderos de la Cornisa Cantábrica en la alimentación del ganado vacuno lechero. La degradabilidad ruminal del nitrógeno se determinó en tres vacas frisonas, vacías y secas, canuladas en rumen que consumían una dieta basal fijada a nivel de mantenimiento, con una relación forraje:concentrado de 70:30 y suministrada en dos tomas diarias a las 8 y 14 horas. El concentrado utilizado para la alimentación de los animales durante los ensayos de degradabilidad era de características similares a los alimentos a valorar. Cinco gramos de muestra molida a 2 mm se pesaron en bolsas de nylon (50 µm de diámetro de poro) y fueron incubados en el rumen durante 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 y 72 horas. Los detalles del procedimiento de incubación se hallan descritos en de la Roza *et al.* (2001). La evolución de la desaparición de la proteína bruta se ajustó para cada animal según el modelo propuesto por Ørskov y McDonald (1979) mediante SAS (1990).

La técnica enzimática utilizada fue la propuesta por Aùfrere y Cartailler (1988) modificada por de la Roza *et al.* (1998). Se tomaron 250 mg de muestra molida a 0.75 mm de los mismos alimentos y fueron incubados durante 1 y 24 horas a 40ºC por duplicado con 1.5 mg de proteasa de *Streptomyces griseus* (Sigma P-5147) disueltos en 25 ml de tampón borato-fosfato (pH=8). Una mezcla de cloramfenicol y pimaricina (0.025 mg de cada uno) se añadió a cada tubo para anular el crecimiento microbiano. Al final de cada período de incubación, y tras centrifugación de los tubos

a 1100xg durante 5 minutos a 10ºC, se filtró el sobrenadante a través de papel Whatman nº54 determinándose su contenido en N-Kjeldhal. El nitrógeno degradado se calculó como el contenido en nitrógeno del filtrado divido por la concentración de nitrógeno del alimento original.

Las relaciones entre parámetros de degradabilidad *in situ* y solubilidades enzimáticas se establecieron mediante análisis de covarianza, considerando a estas últimas como covariables, las clases pienso y mezcla como factores de efecto fijo y la respectiva interacción (SAS, 1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las concentraciones de proteína bruta y fibra neutro detergente de los alimentos fueron, respectivamente, de 21.4%±0.78 y 20.6%±1.12 en los piensos y de 19.4%±0.80 y 18.8%±1.72 en las mezclas. Los parámetros de degradación y la degradabilidad efectiva considerando un ritmo fraccional de tránsito de 6%/h, así como los resultados de degradación enzimática, se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Coeficientes de degradabilidad (a, b, c), degradabilidad efectiva (DE) y desaparición tras 1 (P1) y 24 horas (P24) de incubación con proteasa del nitrógeno de piensos compuestos (PC) y mezclas alimenticias (MZ). Todos los valores en %.

	n	a	b	c	DE	P1	P24
PC	11	40.00	59.14	9.48^{b}	76.16^{b}	35.08	58.10
MZ	8	35.25	62.82	7.51^{a}	69.87^{a}	38.95	59.71
e.e. (±)		1.779	2.140	0.300	0.766	1.885	1.550

Letras diferentes en una misma columna indican diferencias significativas ($p<0.01$).
e.e. error estándar

No se apreciaron diferencias en la solubilidad (a) ni en la fracción potencialmente degradable (b) en ambos tipos de alimentos, mientras que el ritmo fraccional de degradación fue estadísticamente superior ($p<0.01$) en los piensos compuestos que en las mezclas (9.5 vs. 7.5% ±0.30). Como resultado de este mayor ritmo de degradación, la degradabilidad efectiva fue superior en los piensos compuestos (76.2 vs. 69.9% ±0.77 para piensos y mezclas respectivamente, $p<0.001$). La desaparición de proteína bruta tras la digestión enzimática con proteasa de *Streptomyces griseus* no se vio afectada por el tipo de alimento en ninguno de los dos períodos de incubación. Los resultados son inferiores a los aportados por Tománková y Kopečný (1995) para alimentos similares. Esta diferencia puede ser debida al efecto negativo del almidón sobre la acción de la proteasa, ya que estos autores realizaron una hidrólisis previa con amilasa para disminuir dicho efecto negativo. Assoumani *et al.* (1992) sugieren el uso de α-amilasa cuando el contenido de almidón de los alimentos en estudio supere el 23%. En nuestro caso, la proporción de almidón fue de 39.36%±1.793 y 28.79%±1.447 para piensos y mezclas respectivamente. Por otra parte, los relativos bajos valores de P24 respecto a P1 pueden ser debidos a que la acumulación de productos finales de la digestión durante la hidrólisis de la muestra puede inhibir progresivamente la actividad de la proteasa (Stern *et al.*, 1997).

En la tabla 2 se presentan las ecuaciones de predicción de la degradabilidad efectiva, estimada para unas tasas de flujo de 4%/h (DE4), 6%/h (DE6) y 8%/h (DE8), en función de la desaparición del nitrógeno tras incubación de piensos y mezclas con proteasa durante 1 (P1) y 24 (P24) horas. Con el modelo propuesto, no se apreció significación estadística de la interacción entre el tipo de alimento y la

covariable, por lo que dicha interacción se eliminó del modelo a fin de obtener una única pendiente (b) para ambos tipos de alimentos.

Tabla 2. Predicción (y=m+ix) de la degradabilidad efectiva calculada para tasas de flujo de 4%/h (DE4), 6%/h (DE6) y 8%/h (DE8) a partir de la desaparición de nitrógeno en la hidrólisis con proteasa de *Streptomyces griseus* durante 1 (P1) y 24 (P24) horas de piensos compuestos (PC) y mezclas alimenticias (MZ).

		P1					P24			
		n	m	i	R^2	RSD	m	i	R^2	RSD
DE8	PC	11	61.61	0.297	0.689	0.681	54.79	0.297	0.610	0.756
	MZ	8	53.83				47.68			
DE6	PC	11	68.26	0.225	0.658	0.657	62.95	0.227	0.599	0.701
	MZ	8	61.10				56.30			
DE4	PC	11	76.90	0.132	0.601	0.602	73.72	0.134	0.579	0.618
	MZ	8	70.88				67.90			

Las ecuaciones de predicción estimadas a partir de 1 hora de hidrólisis con proteasa presentan unos coeficientes de regresión superiores a los estimados tras 24 horas de incubación. Este descenso en la exactitud de la predicción cuando se incrementa el tiempo de incubación enzimática puede ser debido a la inhibición de la actividad de las proteasa con el tiempo de incubación como ya se ha mencionado anteriormente. En todo caso, la correlación entre los resultados *in situ* y con proteasa es similar a la obtenida por otros autores con las materias primas que entran a formar parte de los piensos y mezclas estudiados (Assoumani *et al.*, 1992). La ordenada en el origen es en todo momento superior en piensos que en mezclas, lo que podría ser un reflejo de la presencia de semilla entera de algodón en mezclas pero no en piensos. Para ambos períodos de hidrólisis, la exactitud de la predicción disminuye conforme se incrementa el tiempo de permanencia del alimento en el rumen, de modo que para un ritmo de tránsito del 4%/h, la desaparición del nitrógeno tras 1 hora de hidrólisis enzimática explica el 60% de la variación, mientras que para una k de 0.08 llegaría al 69%.

Los resultados de este trabajo indican que es posible predecir la degradabilidad efectiva en el rumen de piensos compuestos y mezclas alimenticias a partir de la desaparición del nitrógeno tras hidrolizar los alimentos durante 1 hora con proteasa de *Streptomyces griseus*. El incremento en el tiempo de hidrólisis enzimática hasta las 24 horas, sin la adición de amilasa, no mejora los resultados obtenidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assoumani, M.B.; Vedeau, F.; Jacquot, L.; Sniffen, C.J. (1992). Anim. Feed Sci. Technol. 39: 357-368.

Aùfrere, J.; Cartailler, D., (1988). Ann. Zootech. 37: 255-270.

de la Roza, B.; Martínez, A.; Modroño, S.; Gómez, G.; González, J.; Repetto, J.L., (1998). Actas de la XXXVIII Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos. pp: 223-226.

de la Roza, B.; Martínez, A.; Modroño, S.; Rodríguez, C.; Argamentería, A. (2001). ITEA Volumen Extra, 22: 340-342.

Ørskov, E.R.; McDonald, I. (1979). J. Agr. Sci., Camb. 92: 499-503.

SAS (1990). SAS/STAT User Guide. Ver. 6.4th SAS Inst. INC. North Carolina. USA.

Stern, M.D.; Bach, A.; Calsamiglia, S. (1997). J. Anim. Sci. 75: 2256-2276.

Tománková, O.; Kopečný, J., (1995). Anim. Feed Sci. Technol. 53: 71-80.

EFECTO DE LA EXTRUSIÓN SOBRE LA CINÉTICA DE DEGRADACION DE LA PROTEÍNA DE DISTINTOS SUPLEMENTOS PROTEICOS

Solanas E., Castrillo C., Jover M.[1], Serrano X.[2], Vega de A.
Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria, Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza; [1] Dpto. Ciencia Animal, ETSIA, Valencia. [2] Cooperativa Técnica Agropecuaria, SCCL, Bellpuig.

INTRODUCCIÓN

La extrusión es un tratamiento que combina altas temperaturas con altas presiones y provoca la gelatinización del almidón y una desnaturalización parcial de las proteínas, haciéndolas mas resistentes a la acción microbiana del rumen (Camire *et al.*, 1990). Dicho efecto puede ser especialmente interesante en el caso de las leguminosas, cuyo valor proteico para los rumiantes se ve limitado por la elevada degradabilidad de la proteína (AFRC, 1993). El presente trabajo se centró en determinar el efecto de la extrusión de distintos suplementos proteicos, entre ellos tres leguminosas, sobre la cinética de degradación de la proteína en el rumen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cinco suplementos proteicos con diferentes características en cuanto a su composición y tratamiento previo: haba de soja (rico en grasa), altramuz (rico en fibra), guisante (rico en almidón), torta de soja (suplemento proteico sometido a un tratamiento previo) y gluten feed (rico en fibra y sometido a tratamiento previo con calor). La extrusión se realizó en una extrusionadora experimental de doble tornillo a una temperatura aproximada de 140ºC.

Para determinar la cinética de degradación de los suplementos, antes y después de la extrusión, se llevaron a cabo incubaciones en el rumen de dos vacas frisonas canuladas, que consumían una ración compuesta de 4 kg pienso, 2 kg de heno de alfalfa y 2 kg de paja de cebada. Se utilizaron para ello bolsas de nylon de 10x15 cm de superficie interna, conteniendo 4-5 g de muestra molida a 3 mm. Cada una de las muestras se incubó en cada vaca durante 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas en dos tandas consecutivas (1 bolsa por suplemento, vaca, tanda y hora). Tras la incubación las bolsas fueron congeladas a –18ºC durante al menos 24 horas, y posteriormente descongeladas, lavadas y secadas a 60ºC durante 48 horas, determinándose el contenido en N-Kjeldahl, tanto de las muestras originales como de los residuos. Los valores medios de ambos periodos obtenidos en cada vaca se ajustaron a la ecuación $dgN = a + b[1-e(-ct)]$ propuesta por Ørskov y McDonald (1979), con la restricción de que $(a+b) \leq 100$, utilizando el método Marquardt del procedimiento NLIN del paquete estadístico SAS (2000). Se calculó la degradabilidad efectiva de la proteína para un ritmo fraccional de paso de 0,06 h^{-1}, a partir de la ecuación $dgN_{0,06} = a + b \times c/(c + 0,06)$. Los datos individuales de degradabilidad para cada hora de incubación fueron analizados siguiendo un diseño de parcelas divididas, considerando el efecto vaca como bloque, los suplementos como parcela principal y el tratamiento como subparcela. El efecto suplemento se comparó con la suma de los cuadrados medios de los efectos vaca x alimento y tanda dentro de vaca y alimento (14 g.l.) y los efectos tratamiento y la interacción suplemento x tratamiento se compararon con el cuadrado medio del error residual (15 g.l.). Los parámetros de cinética de degradación y la degradabilidad

efectiva se analizaron siguiendo el mismo modelo, comparando el efecto alimento con la interacción vaca x suplemento (4 g.l.) y los efectos tratamiento y la interacción suplemento x tratamiento con el cuadrado medio del error residual (5 g.l.). Dichos análisis se llevaron a cabo siguiendo el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (2000).

Tabla 1. Contenido en PB de los suplementos a estudio y grado de significación de los efectos suplemento, tratamiento y su interacción sobre la degradabilidad de la proteína a las diferentes horas de incubación y los parámetros de cinética de degradación.

	Altramuz		Haba Soja		Guisante		Torta Soja		Gluten F.				Significac.		
	Ext.	NExt	Ext.	NExt	Ext.	NExt	Ext.	NExt	Ext.	NExt	DER1	DER2	A	T	AxT
PB (%MS)	33,4	30,2	40,3	39,0	22,2	21,5	49,4	49,9	22,5	22,5					
dg 2h	$50,1^{b}$	$64,1^{a}$	$31,3^{b}$	$55,9^{a}$	$31,4^{b}$	$73,5^{a}$	$30,5^{a}$	$27,9^{a}$	$81,4^{a}$	$53,6^{b}$	4,01	2,12	***	***	***
dg 4 h	$57,7^{b}$	$69,0^{a}$	$42,1^{b}$	$62,1^{a}$	$40,5^{b}$	$83,6^{a}$	$37,5^{a}$	$37,7^{a}$	$81,5^{a}$	$60,5^{b}$	3,57	4,49	***	***	***
dg 8h	$72,6^{b}$	$88,5^{a}$	$65,5^{b}$	$81,9^{a}$	$49,3^{b}$	$97,2^{a}$	$48,1^{b}$	$61,1^{a}$	$90,2^{a}$	$75,4^{b}$	4,38	3,17	***	***	***
dg12h	$80,5^{b}$	$93,6^{a}$	$76,3^{b}$	$92,4^{a}$	$55,1^{b}$	$98,6^{a}$	$51,8^{b}$	$72,5^{a}$	$91,0^{a}$	$82,8^{b}$	8,14	3,05	***	***	***
dg24h	$97,2^{a}$	$97,1^{a}$	$95,8^{a}$	$99,1^{a}$	$79,7^{b}$	$99,1^{a}$	$82,3^{b}$	$96,4^{a}$	$94,2^{a}$	$87,2^{b}$	5,45	4,38	*	***	***
dg48h	$98,6^{a}$	$98,6^{a}$	$99,3^{a}$	$99,4^{a}$	$99,4^{a}$	$99,6^{a}$	$98,4^{b}$	$99,3^{a}$	$97,0^{a}$	$96,0^{b}$	0,42	0,33	***	ns	**
a	$38,6^{a}$	$46,3^{a}$	$12,6^{b}$	$36,4^{a}$	$26,0^{b}$	$49,9^{a}$	$19,0^{a}$	$8,9^{b}$	$75,6^{a}$	$42,1^{b}$	5,17	3,04	**	ns	***
b	$61,4^{a}$	$52,4^{b}$	$87,4^{a}$	$63,6^{b}$	$74,0^{a}$	$49,8^{b}$	$81,0^{b}$	$91,1^{a}$	$20,9^{b}$	$51,1^{a}$	5,06	3,042	***	*	**
c	$0,098_{b}$	$0,180_{a}$	$0,108_{a}$	$0,153_{a}$	$0,008_{b}$	$0,313_{a}$	$0,013_{b}$	$0,117_{a}$	$0,127_{a}$	$0,122_{a}$	0,022	0,020	*	***	***

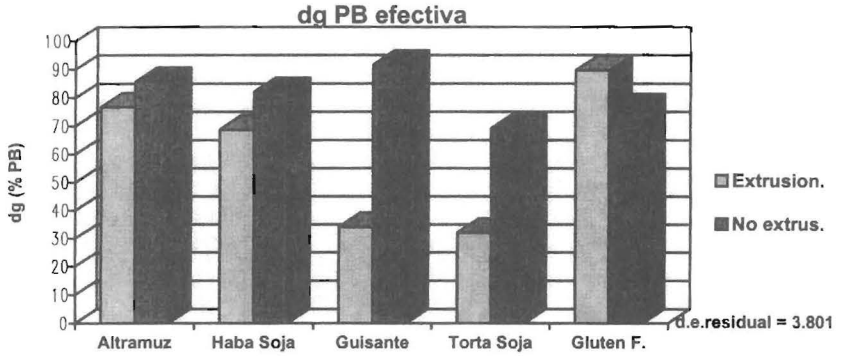
DER1: desviación estándar para la comparación del efecto alimento; DER2: desviación estándar residual para la comparación del efecto tratamiento. * ($p<0.05$), ** ($p<0.01$), *** ($p<0.001$)
Letras diferentes en la misma fila muestran diferencias ($p<0.05$) entre tratamientos dentro de un mismo alimento.

La degradabilidad de la proteína difirió significativamente entre los distintos suplementos proteicos (AFRC, 1993), debido a los distintos ritmos de degradación que cada uno posee, bien por su propia composición, como en el haba de soja, altramuz y guisante o bien por el tratamiento previo que sufren en su elaboración, caso de la torta de soja y el gluten feed.

La extrusión afectó significativamente a la degradabilidad de la proteína, aunque dicho efecto difirió entre suplementos, observándose una interacción significativa suplemento x tratamiento, tanto en la degradabilidad a las distintas horas de incubación como en los parámetros de cinética de degradación y en la degradabilidad efectiva, debido al distinto comportamiento mostrado por las leguminosas crudas y los suplementos sometidos a un tratamiento previo. En las leguminosas crudas la extrusión promovió un descenso ($p<0,05$) de la dgPB a todas las horas de incubación, excepto a las 48 h, cuando la degradabilidad de la proteína superó en todos los casos el 95%. El descenso fue más acusado en el guisante, con diferencias de 42, 43, 48, 44 y 19 unidades porcentuales a las 2, 4, 8, 12 y 24 horas de incubación, respectivamente. La extrusión promovió un descenso de la fracción soluble de la proteína "a" en el haba de soja ($p<0,001$), guisante ($p<0,01$) y altramuz ($p<0,10$), un aumento de la fracción potencialmente degradable "b" ($p<0,05$) y un descenso en el ritmo de degradación "c" ($p<0,05$ en el altramuz y en el guisante y $p<0,10$ en el haba de soja). El efecto de la extrusión sobre la cinética de degradación de la proteína de las tres leguminosas

crudas, supuso un descenso significativo en su degradabilidad efectiva (Figura 1), especialmente importante en el guisante (34,1 % frente a 91,6% en la forma extrusionada y sin extrusionar, respectivamente), resultados que concuerdan con los de Walhaim *et al.* (1992).

Fig.1. Degradabilidad efectiva de la proteína de los distintos suplementos proteicos siendo asumiendo un ritmo fraccional de paso de 0.06 h^{-1}.



En la torta de soja, la forma extrusionada presentó una degradabilidad similar a la no extrusionada hasta las 4 primeras horas de incubación, lo que pudo deberse a que el tratamiento previo que sufre la torta de soja puede hacer disminuir la degradabilidad de la fracción proteica más accesible a los microorganismos, resultando una fracción soluble significativamente inferior ($p<0.05$) en la forma no extrusionada. A partir de las 4 horas de incubación se observó un descenso notable ($p<0.05$) de la degradabilidad debida a la extrusión, originando un descenso significativo del ritmo de degradación y de la dg efectiva (32.1% vs 69.1%). En el gluten feed, la extrusión promovió un incremento de la dgPB a todas las horas de incubación, aumentando la fracción soluble y el ritmo de degradación. Esto pudo ser debido a que la proteína del gluten feed se encuentre íntimamente ligada a la pared celular y la extrusión facilite un desligamiento de la proteína y una mayor accesibilidad de ésta a los microorganismos ruminales.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por COTECNICA . Proyecto CDTI- 00 0266. La extrusión se llevó a cabo en las instalaciones del Dpto. de Ciencia Animal. ETSIA de Valencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFRC, 1993. *Necesidades energéticas y proteicas de los rumiantes*. Ed. Acribia
Camire, M.E., Camire, A., Krumhar, K.,1990. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 29*: 35-57.
Ørskov, E.R., McDonald, I., 1979. *Journal of Agricultural Science, 92*: 499-503.
SAS, 2000, Statistical Analysis System Institute Inc. SAS/STAT. Version 8. Cary. NC.
Walhaim, P., Foucart, M, and Théwis, A., 1992. *Anim. Feed Sci. Tech. 38*: 43-55.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 696-698

ESTIMACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD INTESTINAL DE LA PROTEÍNA NO DEGRADADA EN RUMEN DE DIFERENTES SUPLEMENTOS PROTEICOS MEDIANTE MÉTODOS "IN SITU" E "IN VITRO"

Solanas E., Castrillo C., Balcells J., Fondevila M., Guada, J.A.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El valor de la proteína del alimento que llega sin degradar a duodeno depende en gran medida de su digestibilidad. Existen distintos métodos para la determinación de la digestibilidad de la proteína de la dieta que llega a duodeno. El más utilizado es el método "in situ" de las bolsas móviles (Peyraud *et al.*, 1988), pero no es aplicable de forma rutinaria y la desaparición de proteína de la bolsa no conlleva necesariamente la utilización de ésta por parte del animal (Hvelplund y Weisbjerg, 1998). Por ello se han desarrollado distintas metodologías alternativas "in vitro", siendo la más extendida la basada en la pre-digestión del residuo de incubación en rumen con HCl-pepsina, y una digestión posterior con pancreatina (Antoniewicz *et al.*, 1992; Calsamiglia y Stern, 1995).

El objetivo de este trabajo se centró en el estudio de la correlación existente entre los valores obtenidos "in situ" e "in vitro" en diferentes suplementos proteicos y el posible efecto de la extrusión sobre dicha relación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los suplementos utilizados fueron: haba de soja, haba de soja + maíz (75:25), altramuz, torta de soja y guisante, sin extrusionar y extrusionados. Se utilizaron 2 vacas frisonas canuladas en rumen y duodeno, que recibieron diariamente 4 kg de pienso, 2 kg de pajade cebada y 2 kg de heno de alfalfa. Las muestras fueron incubadas en el rumen durante 12 horas, en bolsas de nylon de 10x15 cm de superficie interna conteniendo 4-5 g muestra molida a 3mm, para obtener una cantidad de residuo no degradado de cada muestra y vaca suficiente para poder realizar las pruebas de digestibilidad posteriores.

Para determinar digestibilidad intestinal "in situ" (DIIS) de la proteína de los residuos de incubación en rumen (Pnd) se siguió la técnica de las bolsas móviles propuesta por Peyraud *et al.* (1988). A cada vaca se le introdujo en duodeno los residuos de degradación correspondientes a cada una de ellas, mediante bolsas de nylon de 50µm de poro de 6x5 cm (6 bolsas/muestra/vaca). A partir de la cantidad de nitrógeno inicial y residual, se calculó la digestibilidad intestinal (DIIS, % Pnd) y la proporción de proteína original del suplemento digerida en intestino (DIIS, % PB). La digestibilidad "in vitro" de la proteína de los residuos de incubación en rumen (DIIV, %Pnd y %PB) se determinó por duplicado siguiendo el método propuesto por Calsamiglia y Stern (1995), utilizando el HCl 0.01N en vez de ser 0.1N para la preparación de la solución de pepsina al objeto de obtener un pH de 2. El contenido en PB (N-Kjeldhal x 6,25) del pool de residuos de incubación en rumen de cada suplemento y vaca, de los residuos de digestibilidad "in situ" y del sobrenadante de las incubaciones in vitro se llevó a cabo según el protocolo propuesto por la AOAC (1990).

Los valores obtenidos por ambos métodos se compararon mediante análisis de regresión y test de valores pareados y se estudió el efecto del tipo de muestra y del tratamiento sobre las diferencias entre los métodos, mediante análisis de

varianza factorial. Las diferencias entre las medias se probaron utilizando el test de mínimas diferencias significativas (lsd). Todos análisis se realizaron siguiendo los procedimiento REG y GLM del paquete estadístico S.A.S (2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El valor medio de DIIS (%Pnd) para el conjunto de muestras fue superior ($p<0.001$) al de DIIV (%Pnd) (90.7±2.32 vs 77.3±4.56), siendo la correlación entre los valores individuales obtenidos con ambos métodos de 0.899 (Figura 1). Las diferencias entre métodos se vieron influenciadas por el tipo de muestra y por el tratamiento (Tabla 1), ya que sólo se manifestaron de forma significativa en los suplementos de haba de soja sin extrusionar. Cuando de la regresión entre métodos se eliminaron los datos correspondientes a las muestras de haba de soja sin extrusionar el coeficiente de regresión mejoró sustancialmente (r= 0.931). McNiven *et al.*(2002) también encontraron un empeoramiento de la relación entre métodos con el haba de soja, tal vez porque su alto contenido en grasa interfieren la digestibilidad "in vitro", al no utilizarse lipasas. Por ello al extrusionarla y romper las micelas de grasa (Mohamed *et al.*, 1998) se facilitaría la digestión, disminuyendo las diferencias entre ambos métodos.

Fig. 1 Regresión entre la DIIS (%Pnd) y la DIIV (%Pnd)

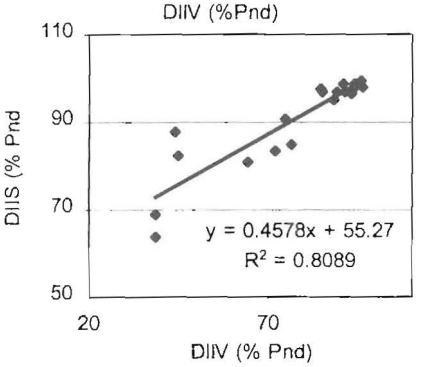


Fig. 2 Relación entre la degradabilidad de la proteína y las diferencias entre métodos

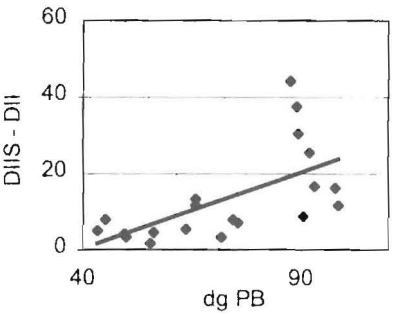


Tabla 1. Lsmeans, desviación estándar residual y grado de significación de los efectos suplemento y tratamiento sobre las diferencias DIIS-DIIV

		HabaS.	Haba S. + Maíz	Altram.	Torta	Guisant.	Ø	DER	Significación		
									Mues.	Tra	MxT
DIIS - DIIV (%Pnd)	NoExt.	27.95^{cA}	40.75^{bA}	12.67^{dA}	9.41^{dA}	13.94^{dA}	**20.94**	3.644	***	***	***
	Extrus.	9.96^{cB}	3.08^{dB}	5.30^{dA}	6.41^{cdA}	4.13^{dA}	**5.77**				
	Ø	**18.95^{b}**	**21.91^{b}**	**8.98^{c}**	**7.91^{c}**	**9.04^{c}**					
DIIS - DIIV (% PB)	NoExt.	2.70	4.86	1.03	3.27	0.28		0.935	*	ns	ns
	Extrus.	3.05	1.50	1.36	3.57	1.92					
	Ø	**2.87^{cb}**	**3.18^{cb}**	**1.19^{c}**	**3.42^{b}**	**1.10^{c}**					

Diferentes letras minúsculas dentro de una misma línea indican diferencias significativas entre muestras ($p<0.05$)

Diferentes letras mayúsculas dentro de una misma columna indican diferencias significativas ($p<0.05$) debidas a la extrusión;.DER = Desviación estándar residual;* ($p < 0.05$); ** ($p < 0.01$); *** ($p < 0.001$)

Como muestra la figura 2, las diferencias entre los valores de DIIS y DIIV fueron mayores cuanto mayor fue la degradabilidad en rumen de la proteína de los suplementos a estudio, lo que muestra que cuanto menor es la proporción de proteína que escapa de la degradación en rumen mayor es su resistencia al ataque enzimático, hecho que explica también las menores diferencias entre métodos observada con las muestras extrusionadas.

La subestimación cuantitativa de la digestibilidad del residuo de degradación en rumen, cuando se estima "in vitro" en relación a "in situ", también observada por otros autores (Antoniewicz *et al.*, 1992; McNiven *et al.*, 2002) puede deberse a la desaparición a través de los poros de las bolsas de proteínas no solubles que en la digestión "in vitro" se asumen como no digeridas (Antoniewicz et al., 1998). Calsamiglia y Stern (1995) no encontraron estas diferencias entre métodos, tal vez por utilizar una solución de HCl 0.1 N, en lugar de 0.01N utilizada en el presente estudio, que habría promovido una mayor digestión de la proteína (Antoniewicz *et al.*, 1998). En cualquier caso, el método "in vitro" fue capaz de detectar cambios en la digestibilidad debidos a la extrusión, ya que los efectos fueron cualitativamente iguales a los observados en la prueba "in situ", coincidiendo con los resultados de Calsamiglia y Stern (1995) y McNiven *et al.* (2002).

Cuando los resultados se expresaron como porcentaje de la proteína inicial del alimento (% PBI) no se observaron diferencias entre los métodos "in situ" e "in vitro"(26.1±4.22 vs 23.8±4.17, respectivamente), mostrando los valores obtenidos por ambos métodos una elevada correlación (r=0.931), debido a que la degradabilidad de la proteína, que fue común en ambos métodos, tiene un peso muy importante en el cálculo de la DI(%PB).

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por COTECNICA en el marco del proyecto CDTI- 00 0266. La extrusión se llevó a cabo en las instalaciones del Dpto. de Ciencia Animal de la ETSIA de Valencia

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Antoniewicz, A.M., Kosmala, I., van Vuuren, A.M., and van der Koelen, C.J., 1992. *Animal Feed Science & Technology* 39: 111-124.

Antoniewicz, A.M., Kosmala, I., Hvelplund, T., and van Vuuren, A.M.,1998. *British Society of Animal Science*. Occ. Pub.22. : 115-117.

AOAC., 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Washington.

Calsamiglia, S., and Stern, M.D., 1995. *Journal Animal Science* 73: 1459-1465.

Hvelplund, T. and Weisbjerg, M.R., 1998. *British Society of Animal Science*. Occ. Pub. 22.: 131-144.

McNiven, M.A., Prestlokken, E., Mydland, L.T., Mitchell, A.W. 2002. *Animal Feed Science & Technology* 96: 1-14.

Mohamed, O.E., Satter, L.D., Grummer, R.R., and Ehle, R., 1998. *Journal Dairy Science* 71: 2677

Peyraud, J.L., Genest-Rulquin, C., Verité, R., 1988.*Reprod. Nutr. Dévelop.* 27: 129-130.

SAS., 2000. Statistical Analysis System Institute Inc. SAS/STAT. Version 8.Cary. NC.

EFECTOS DEL pH SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL EN CULTIVOS CONTINUOS ALIMENTADOS CON DIETA ALTA EN CONCENTRADO[1]

P. W. Cardozo, S. Calsamiglia y A. Ferret
Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 - Bellaterra, España

INTRODUCCIÓN

El pH ruminal es fundamental para el mantenimiento del equilibrio de las poblaciones microbianas y de la fermentación ruminal. Su reducción por debajo de 6.0 está asociada con dietas altas en concentrado (carbohidratos rápidamente fermentables) y produce la reducción de la degradación de la fibra, de la proteína bruta (**PB**), y del perfil de ácidos grasos volátiles (**AGV**). Mould *et al.* (1983) y Russell (1998) demostraron que los cambios en la fermentación ruminal por administrar dietas altas en concentrado no son consecuencia de la reducción del pH únicamente, sino que parte de esos efectos están causados por el tipo de dieta. Por consiguiente, existe un efecto confundido entre el pH y el tipo de dieta. En un trabajo previo con una dieta rica en forraje y 8 niveles de pH (Cardozo *et al.*, 2001) se observó una reducción en la digestibilidad de la materia seca (**MS**), materia orgánica (**MO**), fibra y PB, y una modificación del perfil de AGV a medida que el pH descendía. Existe poca información de los efectos del pH sobre la fermentación ruminal con dietas altas en concentrado.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos del pH ruminal sobre la fermentación microbiana manteniendo constante el tipo de dieta (alta en concentrado) y las condiciones de fermentación en un sistema de flujo doble continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de flujo doble continuo desarrollados por Hoover *et al.* (1976). Se controló la temperatura (38 °C), la velocidad de mezclado (300 rpm) y las tasas de dilución de las fracciones líquidas y sólidas (10 y 5 %/h, respectivamente). El inóculo ruminal se obtuvo de terneros en cebo. Se suministró a cada fermentador 95 g/día de MS (3 porciones iguales a intervalos de 8 h) de una dieta 10:90 forraje:concentrado que cumplía las recomendaciones del NRC (1996) para alimentar terneros de 180 kg de peso vivo. La dieta contenía (% MS) 10% de paja, 29.6% de harina de maíz, 24.9% de harina de cebada, 19.4% de soja, 14.1% de tapioca, 0.35% de bicarbonato sódico y 1.65% de una mezcla de minerales y vitaminas. Los tratamientos fueron 8 niveles de pH, desde 4.9 a 7.0 (a intervalos de 0.3), controlados por infusiones de HCl (3 *N*) y NaOH (5 *N*). El experimento consistió en 2 períodos consecutivos de 5 días de adaptación y 3 de muestreo (recolección de 500 ml de efluyente/d). De los 1500 ml obtenidos en los 3 días de muestreo, se extrajeron 3 muestras para la determinación de N total, de N amoniacal, y de AGV. Se liofilizaron 600 ml de efluyente y se analizó la MS, MO, FAD, y bases púricas. Toda la analítica de las muestras se realizó según Calsamiglia *et al.* (2002). Las bacterias de la fase sólida y líquida fueron aisladas de cada fermentador según Whitehouse *et al.* (1994) y Olubobokun y Craig (1990). Posteriormente fueron liofilizadas y analizadas para MS, MO, N y bases púricas. El diseño experimental utilizado fue de bloques completamente al azar con 8 tratamientos y 2 períodos, considerando el período como bloque. Para

[1] Trabajo financiado por CICYT (proyecto AGF 97 – 0444)

determinar el efecto del pH ruminal sobre la fermentación microbiana se realizó un análisis de contrastes ortogonales lineales, cuadráticos y cúbicos utilizando el programa GLM del SAS (1996).

RESULTADOS

La dieta contenía 87.3% MS, 17.9% de PB, 20% de FND y 10% de FAD. Como consecuencia de la reducción de pH, la digestibilidad de la MS, MO, y FAD disminuyó de forma lineal. Asimismo, la degradación de la PB se vio disminuida de forma cúbica (Tabla 1).

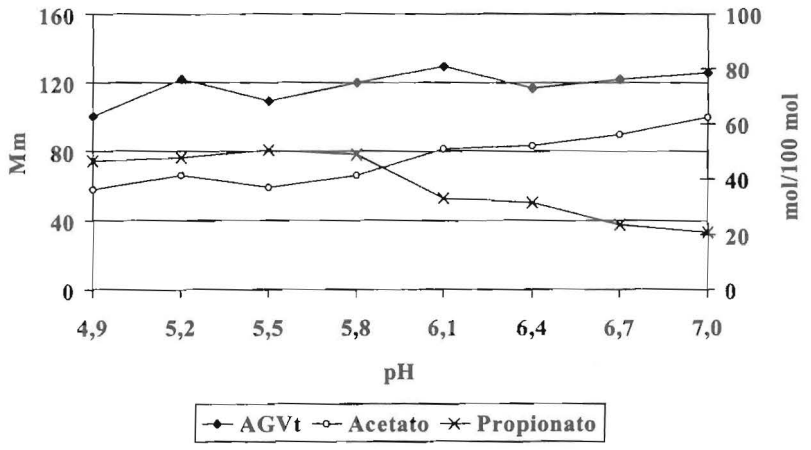
Tabla 1. Efectos del pH sobre la degradabilidad ruminal de la MS, MO, FAD y de PB.

Tratamientos	4.9	5.2	5.5	5.8	6.1	6.4	6.7	7.0
Digestibilidad (%)								
MS verdadera[1]	47.0	48.0	47.8	48.0	51.8	54.8	56.6	55.4
MO verdadera[1]	42.2	45.8	48.9	47.4	47.9	49.5	49.1	48.8
FAD[1]	11.5	11.7	33.0	34.6	28.8	39.5	48.1	54.6
PB[3]	18.4	16.8	20.5	13.3	24.2	31.9	39.0	36.1

[1] Efecto lineal del pH ($P < 0.05$)
[3] Efecto cúbico del pH ($P < 0.05$)

La reducción del pH provocó una disminución lineal en la concentración de AGV totales (máximo a pH 6.1, 129 mM; mínimo a pH 4.9, 100 mM; Figura 1), en la proporción de acetato (máximo a pH 7.0, 62%; y mínimo a pH 4.9, 36%; Figura 1) y AGV ramificados (máximo a pH 7.0, 5.9%; y mínimo a pH 5.5, 0.3%), y en la relación acetato:propionato (máximo a pH 7.0, 3.0; y mínimo a pH 4.9, 0.8), mientras que la proporción de propionato aumentó de forma lineal (máximo a pH 5.5, 51%; y mínimo a pH 7.0, 21%; Figura 1).

Figura 1. Efecto lineal del pH sobre AGV totales, acetato y propionato.



El descenso del pH tuvo un efecto cuadrático sobre la concentración de N amoniacal (máximo a pH 6.7, 6.7 mg N/100 ml), y del flujo de N bacteriano (máximo a pH 7.0, 1.3 g/d) y un efecto cúbico sobre la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (máximo a pH 7.0, 31.0; y mínimo a pH 5.8, 18.4 g N/kg MO verdaderamente digerida). Asimismo, la reducción del pH afectó de forma cuadrática al flujo total de N (mínimo a pH 5.8, 3.07 g/d), y de forma cúbica al flujo de N proveniente de la dieta (máximo a pH 5.8, 2.3 g/d; y mínimo a pH 6.7, 1.6 g/d; Tabla 2).

Tabla 2. Efectos del pH sobre el metabolismo del Nitrógeno

Tratamientos	4.9	5.2	5.5	5.8	6.1	6.4	6.7	7.0
N amoniacal, mg/100 ml[2]	1.69	0.89	0.95	1.21	1.47	2.89	6.70	6.39
Flujo de N, g/d								
Total[2]	3.20	3.13	3.14	3.07	3.12	3.11	3.05	3.19
Amoniacal[2]	0.05	0.03	0.03	0.04	0.05	0.09	0.21	0.20
No amoniacal[1]	3.15	3.11	3.11	3.04	3.08	3.01	2.84	2.98
Microbiano[2]	1.00	0.92	1.02	0.75	1.08	1.22	1.23	1.30
Dieta[3]	2.15	2.19	2.09	2.28	2.00	1.79	1.61	1.68
g N bacteriano/Kg MOVD*[3]	26.2	23.2	24.0	18.4	26.1	28.6	29.1	31.0

[1] Efecto lineal del pH ($P < 0.05$)
[2] Efecto cuadrático del pH ($P < 0.05$)
[3] Efecto cúbico del pH ($P < 0.05$)
* MOVD = Materia orgánica verdaderamente digerida

En general, el efecto del pH sobre la fermentación ruminal fue similar al observado en raciones con un contenido elevado de forraje (Cardozo *et al.*, 2001). Sin embargo, la degradación de los nutrientes y la producción de AGV fue menor en las dietas altas en concentrado. Los datos sugieren que las bacterias fibrolíticas alimentadas con dietas altas en concentrado y con pH favorables (>6.2) no degradan la fibra disponible en un grado esperado a las dietas ricas en forraje, sino que se orientan a utilizar otros nutrientes presentes en el medio.

CONCLUSIÓN

La reducción del pH resultó en la disminución de la degradación de la MS, MO, FAD, y PB, de la concentración de AGV, y en un aumento en el flujo de N de origen alimentario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Calsamiglia, S., Ferret, A., y M. Devant. 2002. J. Dairy Sci. 85:574.
Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., y A. Ferret. 2001. ITEA. Vol. Extra 22:364.
Hoover, W. H.,Crooker, B. A., y C. J. Sniffen. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.
Mould, F. L., Ørskov, R. E., y S. O. Mann. 1983. Anim. Feed Sci. Technol. 10:15.
NRC, 1996. Nutrient requirements of beef Cattle (7th Ed.) Nat. Acad. Press. Washington, DC.
Olubobokun J. A., y W. M. Craig. 1990. J. Anim. Sci. 68:3360.
Russell, J. B. 1998. J. Dairy Sci. 81:3222.
SAS user's guide. 1996 (version 8.1). SAS inst. Inc. Cary. NC.
Whitehouse, N. L., V. M., Olson, C. G.Schwab, W. R. Chesbro, K. D. Cunnigham, y K.D. Lycos. 1994. J. Anim. Sci. 72:1335.

EFECTOS DE LA INCLUSIÓN DE PROTEÍNA NO DEGRADABLE EN EL RUMEN SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA Y EL FLUJO DE AMINOÁCIDOS EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTINUO

S. Gargallo, S. Calsamiglia, A. Ferret
Dept. de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España

INTRODUCCIÓN

El aporte de aminoácidos (AA) absorbibles de origen alimentario depende de la degradabilidad de la proteína en el rumen y de la disponibilidad en el intestino delgado de los aminoácidos no degradados. Trabajos in situ han sugerido que el perfil de AA de la proteína tras su paso por el rumen es distinto al de la proteína original (Erasmus y col., 1994). Sin embargo, los estudios in situ no contemplan los aspectos dinámicos de la fermentación ruminal. Sólo en contadas ocasiones se ha diseñado un experimento destinado a predecir el aporte neto de AA individuales procedente de un suplemento proteico concreto (Titgemeyer y col., 1989). Dicho trabajo demuestra que existen diferencias en la degradabilidad ruminal y en la digestibilidad intestinal entre AA de un mismo suplemento. El planteamiento de este tipo de trabajos está sujeto a la variación de diversos factores difíciles de controlar in vivo y que pueden afectar al flujo de aminoácidos de origen alimentario.

El objetivo de este trabajo fue determinar los efectos de la incorporación de niveles crecientes de harina de soja protegida (ST) y gluten meal de maíz (CGM) sobre la fermentación microbiana, el flujo de nutrientes y la degradabilidad relativa de AA en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores de doble flujo continuo (Hoover y col., 1976) inoculados con líquido ruminal extraído de una vaca canulada. El experimento se realizó en tres periodos consecutivos de 8 días cada uno (5 de adaptación y 3 de muestreo). Se diseñaron 8 raciones isonitrogenadas con una relación forraje:concentrado de 55:45, compuestas por una mezcla basal de ingredientes común a todas las raciones (71.2% de la MS total) a la que se añadieron los diferentes tratamientos (28.8% sobre el total de MS). Los tratamientos consistieron en combinaciones de fuentes de N no proteico (urea y triptona) y un suplemento de proteína verdadera (ST o CGM) en las siguientes proporciones: 0% ST (ST-0), 33% ST (ST-33), 66% ST (ST-66), 100% ST (ST-100), 0% CGM (CGM-0), 33% CGM (CGM-33), 66% CGM (CGM-66) y 100% CGM (CGM-100). Todas las raciones cumplían las recomendaciones del NRC (2001). Se buscó un elevado contenido en PB de las raciones (22%) con la finalidad de que todas aportaran suficiente proteína degradable como para no limitar la síntesis de proteína bacteriana, y a la vez permitieran incluir cantidades de ST o CGM que provocaran efectos medibles sobre el flujo de proteína y AA de origen alimentario. Cada fermentador recibió diariamente y de forma semicontínua, 95 g (en MS) de la ración que le había sido asignada al azar. Las condiciones de temperatura (39ºC), pH (6.4 ± 0.05) y las tasas de dilución de las fracciones líquida (10%/h) y sólida (5%/h), se mantuvieron constantes.

De los efluentes obtenidos en los días de muestreo, se tomaron submuestras para analizar el N total, N amoniacal y AGV. Otros 600 ml se liofilizaron para analizar el contenido en MS, cenizas, fibra, bases púricas y AA. El último día de cada periodo experimental se aislaron las bacterias de cada fermentador por centrifugación

diferencial. Las muestras de bacterias obtenidas se liofilizaron y se analizó su contenido en MS, cenizas, N y bases púricas.

El valor de escape ruminal de los aminoácidos individuales (AAi) de cada suplemento se obtuvo a partir de la pendiente entre la cantidad del AAi (g/d) aportada por el suplemento proteico (ST o CGM) y el flujo del AAi en el efluente del fermentador (g/d). Los valores de escape ruminal de cada AAi divididos entre el valor de escape de los AA totales, dieron los valores relativos de escape ruminal.

Los resultados obtenidos se analizaron con el procedimiento GLM del SAS (1988), realizando la comparación de medias con el LSMEANS. La comparación del valor relativo de escape de los aminoácidos dentro de cada suplemento se realizó mediante un test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La digestibilidad real de la MO fue mayor en las dietas ST que en las dietas CGM ($P < 0.05$) y descendió a medida que aumentaba el nivel de proteína no degradable ($P < 0.01$). Sin embargo, ni el tipo ni el nivel de suplemento afectaron a la degradabilidad de la fibra.

La concentración de N amoniacal y la degradación de la proteína disminuyeron a medida que aumentaba el nivel de ST o CGM. Los flujos de N no amoniacal y de N dietario se comportaron de manera similar para ambos suplementos, aumentando a medida que aumentaba el nivel de suplemento proteico. No se observaron efectos del tipo o del nivel de suplemento sobre el flujo de N bacteriano (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos del nivel de inclusión de harina de soja tratada (ST) o gluten meal de maíz (CGM) sobre el metabolismo del nitrógeno in vitro.

	ST				CGM				
	0	33	66	100	0	33	66	100	EE
N amoniacal (mg/dl) [a]	46.3	32.7	23.7	15.6	47.6	31.9	23.2	12.5	1.13
Flujo de N (g/d)									
Total	3.91	4.01	4.19	4.09	4.04	4.11	4.07	3.98	0.05
Amoniacal[a]	1.45	1.03	0.75	0.50	1.51	1.02	0.73	0.40	0.03
No amoniacal [a]	2.46	2.98	3.44	3.59	2.53	3.09	3.33	3.58	0.05
Dietario [a]	1.43	1.98	2.22	2.32	1.42	2.05	2.24	2.60	0.07
Bacteriano	1.03	1.00	1.23	1.27	1.10	1.04	1.09	0.99	0.05
Degradación PB (%)[a]	57.2	41.6	33.9	32.1	57.2	38.7	33.4	23.3	2.02
ESPM [a 1]	24.1	24.9	33.9	35.2	28.5	28.9	29.6	28.5	1.58

[a] Efecto del nivel de suplemento $P<0.01$

[1] ESPM = Eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g N/kg MO verdaderamente digerida).

La concentración total de AGV y las proporciones molares de acetato y propionato no se vieron afectadas por el tipo o el nivel de suplemento. En las dietas CGM se observó una mayor concentración de AGV ramificados que en las dietas ST, y disminuyó a medida que aumentaba el nivel de suplemento.

Las dietas CGM proporcionaron el mayor flujo de AA totales y esenciales ($P < 0.01$). El mayor flujo de lisina se obtuvo en los fermentadores que recibieron la dieta ST-100 ($P < 0.01$), mientras que la que aportó un mayor flujo de metionina fue la dieta CGM-100 ($P < 0.05$).

La Tabla 2 muestra el escape ruminal relativo de los AA de ST y CGM. Los valores mayores que 1 indican que la degradación ruminal del AA fue menor que la del total de AA aportados por el suplemento; los valores menores que 1 indican que el AA se degradó más que la media de los AA totales.

Tabla 2. Escape ruminal relativo de los aminoácidos de la harina de soja tratada (ST) y del gluten meal de maíz (CGM)

Aminoácido	ST	CGM
AA esenciales	0.85^{c}	0.69^{cde}
Arg	0.81^{c}	0.76^{cde}
His	0.75^{c}	0.96^{cd}
Ile	0.90^{c}	0.63^{de}
Leu	0.86^{c}	0.79^{cde}
Lys	0.65^{c}	0.08^{e}
Met	1.12^{c}	0.45^{de}
Phe	0.88^{c}	0.67^{cde}
Thr	0.96^{c}	0.80^{cde}
Val	0.89^{c}	0.65^{cde}
AA no esenciales	1.19^{bc}	1.47^{c}
Ala	0.91^{c}	1.26^{cd}
Asp	1.88^{ab}	3.07^{ab}
Glu	1.31^{bc}	2.54^{b}
Gly	0.97^{c}	0.72^{cde}
Pro	0.63^{c}	0.73^{cde}
Ser	0.88^{c}	0.99^{cd}
Tyr	2.43^{a}	3.71^{a}
Totales	1.00^{c}	1.00^{cd}
Error estándar	0.14	0.16

^{abcde} Los valores con diferente superíndice dentro de cada suplemento son diferentes ($P < 0.05$).

La dificultad de determinar con precisión el flujo de AA procedentes de los suplementos proteicos impide identificar diferencias significativas. Sin embargo, las tendencias numéricas de ambos suplementos sugieren que la degradación ruminal de los AA esenciales es superior a la de los AA no esenciales.

CONCLUSIONES

La suplementación de raciones con fuentes de proteína de baja degradabilidad ruminal, incrementó el flujo de N dietario y de aminoácidos totales y esenciales, y modificó el perfil de AA del efluente sin afectar al perfil de fermentación ruminal o al flujo de proteína microbiana.

AGRADECIMIENTOS

Financiado por el proyecto CICYT AGF97-0444

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Erasmus, L. J., P. M. Botha y C.W. Cruywagen. 1994. J. Dairy Sci. 77:541.
Hoover, W. H., B. A. Crooker y C. J. Sniffen. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.
NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. (7th rev. Ed.). National Academy Press, Washington, DC.
SAS. 1988. SAS user's guide. SAS Institute, Cary. NC.
Titgemeyer, E. C., N. R. Merchen y L. L. Berger. 1989. J. Anim. Sci. 67:262.

EFECTO DEL PH Y LA TASA DE DILUCIÓN SOBRE EL PERFIL Y EL FLUJO DE AMINOÁCIDOS DE ORIGEN BACTERIANO EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTINUO

M. Rodríguez, S. Calsamiglia, A. Ferret
Dept. de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España

INTRODUCCIÓN

Los actuales sistemas de racionamiento para el vacuno lechero (p.e. INRA, NRC, 2001; Sistema Cornell) incorporan estimaciones de las necesidades y aportes de aminoácidos (AA) al intestino delgado en sus modelos de predicción. Una proporción importante de los AA que fluyen al intestino delgado son de origen microbiano (50-80%; Storm y Ørskov, 1983). Aunque la población microbiana adherida a la fracción sólida (BS) constituye aproximadamente un 80% de la población microbiana total del rumen (Craig et al., 1987), la mayoría de los estudios realizados utilizan la población microbiana asociada a la fracción líquida (BL) como referencia, ya que se asume que no existen diferencias importantes entre poblaciones microbianas. Sin embargo, varios autores (Martin et al, 1996; Yang et al., 2001) han observado diferencias importantes en la composición química y el perfil de AA entre BL y BS.

Es probable que ciertas condiciones de fermentación como el pH y la tasa de dilución afecten a la contribución parcial de BL y BS al flujo total de materia microbiana al intestino delgado y, por lo tanto, su contribución estimada al aporte de AA al intestino delgado del rumiante. La hipótesis es que si el pH y la tasa de dilución afectan a la contribución parcial de BL y BS, y su perfil de aminoácidos es distinto, el flujo de AA de origen microbiano será distinto. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del pH y la tasa de dilución (TD) sobre el perfil y flujo de AA de origen microbiano en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores continuos de flujo doble (Calsamiglia *et al.* 2002), inoculados con líquido ruminal extraído de dos vacas provistas de cánula ruminal. El experimento se realizó en dos periodos consecutivos de 10 días cada uno (7 de adaptación y 3 de muestreo). El diseño experimental fue en bloques al azar (periodo), con arreglo factorial de tratamientos, siendo el pH (Alto: 6.5 y Bajo: 5.5) y la tasa de dilución de sólidos (TD; Lenta: TDL=4%/h y Rápida: TDR=10%/h), los factores principales. Los tratamientos fueron la combinación de los factores principales. La temperatura (39ºC), la tasa de dilución de líquidos (10 %/h) y la ingestión de MS (80 g MS/d) se mantuvieron constantes. La dieta (60:40 forraje concentrado, 17% PB, 23.9% FND) se suministró de manera semi-continua (0.556 g/10 min) utilizando un alimentador de pistones. Durante los días de muestreo, los efluentes permanecieron a 4ºC, de donde se tomaron muestras para determinar su contenido en MS, cenizas, N total y bases púricas. Los pellet bacterianos se obtuvieron del contenido total del fermentador. Las BL se obtuvieron por filtración y centrifugación diferencial, mientras que las BS se obtuvieron del residuo sólido, tras la aplicación de varios métodos de desligamiento (Whitehouse *et al.*, 1994) y del mismo proceso de filtración y centrifugación diferencial que las BL. En ambos grupos bacterianos se determinó el contenido en MS, MO, N, bases púricas y perfil de AA. El flujo de AA de origen bacteriano se calculó a partir del contenido en AA de las bacterias (gAA/gMS) y el flujo de MS bacteriana (g/d), siendo éste último estimado a partir del contenido en bases púricas en cada grupo bacteriano y en el efluente. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del SAS (1988), y la comparación de medias se realizó mediante el método de mínimos cuadrados (LSMEANS). La comparación del perfil y flujo de AA entre BL y BS se realizó mediante un test pareado (t-test).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron interacciones entre pH y TD en el perfil y flujo de AA. En consecuencia, los resultados se presentan según los efectos principales (Tabla 1). El

perfil de AA de las bacterias difirió sólo en 3 (Thr, Arg y His) de los 9 AA esenciales (AAE; $P < 0.05$) cuando el pH se redujo de 6.5 a 5.5, aunque la magnitud de las diferencias fue numéricamente poco importante. Cuando se estudió el efecto de TD, el perfil de AAE de las bacterias difirió ($P < 0.05$) en 6 (Arg, Val, Ile, Leu, Lys e His) de los 9 EAA cuando TD se redujo de 10 a 4%/h. Aunque dichas diferencias fueron dependientes del tipo de población microbiana considerada, el contenido en Ile fué un 28% mayor en TDR comparado con TDL, tanto con BL como con BS.

Tabla 1. Efectos del pH y la tasa de dilución sobre el perfil y flujo de AA.

AA	GB[a]	Perfil AA (g/100 g AA)				EE	Flujo AA (g/d)				EE
		pH		TD			pH		TD		
		5.5	6.5	TDL	TDR		5.5	6.5	TDL	TDR	
Thr	BL	5.7^{e}	6.2^{d}	5.9	6.0	0.06	0.57	0.61	0.70^{f}	0.48^{g}	0.08
	BS	5.7^{e}	6.1^{d}	5.9	5.9	0.05	0.58	0.62	0.69	0.51	0.08
Arg	BL	3.6^{d}	3.3^{e}	3.4	3.6	0.06	0.56	0.58	0.70^{d}	0.44^{e}	0.07
	BS	3.7^{d}	3.3^{e}	3.4^{e}	3.6^{d}	0.04	0.59	0.57	0.69^{f}	0.47^{g}	0.07
Val	BL	4.9	5.2	5.1	5.0	0.13	0.70	0.75	0.89^{d}	0.56^{e}	0.10
	BS	5.0	5.2	4.8^{d}	5.3^{e}	0.10	0.73	0.75	0.88^{f}	0.60^{g}	0.10
Met	BL	1.3	1.3	1.2	1.4	0.07	0.27	0.28	0.36^{d}	0.19^{e}	0.05
	BS	1.3	1.2	1.2	1.3	0.07	0.28	0.29	0.36^{d}	0.20^{e}	0.04
Ile	BL	3.9	4.2	3.7^{e}	4.5^{d}	0.22	0.66	0.69	0.86^{d}	0.50^{e}	0.09
	BS	3.9	4.2	3.4^{e}	4.7^{d}	0.18	0.67	0.69	0.85^{d}	0.52^{e}	0.09
Leu	BL	5.9	5.8	5.9	5.9	0.13	0.79	0.84	1.00^{d}	0.62^{e}	0.11
	BS	6.1	5.9	5.8^{e}	6.3^{d}	0.09	0.84	0.83	0.99^{f}	0.68^{g}	0.11
Phe	BL	3.3	3.4	3.3	3.3	0.05	0.45	0.49	0.57^{d}	0.36^{e}	0.06
	BS	3.4	3.4	3.4	3.5	0.04	0.49	0.48	0.56	0.40	0.06
Lys	BL	11.4	11.1	11.4	11.1	0.26	0.93	0.95	1.16^{d}	0.72^{e}	0.14
	BS	11.2	10.7	10.6^{g}	11.2^{f}	0.20	0.94	0.95	1.15^{d}	0.73^{e}	0.14
His	BL	3.1^{d}	2.6^{e}	2.9	2.9	0.06	0.18	0.19	0.23^{d}	0.14^{e}	0.03
	BS	3.2^{d}	2.7^{e}	3.1^{d}	2.9^{e}	0.07	0.20	0.18	0.22^{f}	0.15^{g}	0.03
AAE[b]	BL	43.1	42.9	42.7	43.3	0.63	5.11	5.38	6.47^{d}	4.02^{e}	0.72
	BS	43.4	42.8	41.6^{e}	44.6^{d}	0.41	5.31	5.35	6.40^{f}	4.26^{g}	0.73
AANE[c]	BL	56.8	57.1	57.2	56.7	0.63	4.71	4.89	5.64^{f}	3.95^{g}	0.61
	BS	56.6	57.2	58.3^{d}	55.4^{e}	0.41	4.84	4.96	5.64	4.16	0.66
Total	BL	-	-	-	-	-	9.82	10.27	12.11^{d}	7.98^{e}	1.33
	BS	-	-	-	-	-	10.15	10.32	12.04^{f}	8.43^{g}	1.38

[a] GB = Grupo bacteriano, considerando BL ó BS en el cálculo.
[b] AAE Incluye Thr,Arg,Val,Met,Ile,Leu, Phe, Lys, His. [c] AANE Incluye Ia,Asp,Glu,Gly,Pro,Ser,Tyr.
[d, e] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).
[f, g] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.10$).

Cuando se evaluó el efecto de los factores principales sobre el flujo total de AAE de origen bacteriano, se observaron diferencias en el flujo cuando se varió la TD pero no cuando se varió el pH (Tabla 1). Al variar la TD de 10 a 4%/h, se observaron diferencias en el flujo de todos los AAE de origen bacteriano, aunque al igual que en caso del perfil, las diferencias ó el nivel de significación fue, en la mayoría de los casos, dependiente del grupo bacteriano utilizado en los cálculos. En general, el flujo de AA bacterianos totales, AAE ($P < 0.05$) y AANE ($P < 0.10$) fue mayor en TDL comparado con TDR cuando BL se utilizó en los cálculos. Cuando se utilizó BS, sólo el flujo de AA totales y esenciales tendió ($P < 0.10$) a ser mayor en TDL comparado con TDR. Las diferencias en el perfil (g/100g AA) de AA fueron biológicamente poco importantes, y contrastan con las diferencias cuantitativamente importantes en el flujo de AA (g/d). Esta aparente contradicción indica que la

estimación del flujo de materia seca microbiana (dependiente de la relación N.purinas) tiene un impacto mayor en la estimación del flujo de AA de origen bacteriano que las diferencias en el perfil de AA.

Los resultados de la comparación del perfil y flujo de AA esenciales entre BL y BS se presentan en la Tabla 2. Al comparar el perfil de AA entre ambas poblaciones se observó que la concentración de Phe e His fue mayor ($P < 0.05$) y la de Thr tendió a ser menor ($P < 0.10$) en BS comparado con BL. En este caso, tanto la magnitud de la diferencia como el número de AA que difirieron entre BL y BS fue menor a la observada por Martin et al. (1996) y Yang et al. (2001). Al comparar el flujo de AAE (g/d) no se observaron diferencias al utilizar BL o BS en el cálculo.

Tabla 2. Diferencias en el perfil y flujo de AA entre BL y BS en cultivo continuo

AA	Perfil AA[a] (g/100 g AA)			Flujo AA[a] (g/d)		
	BL	BS	EE	BL	BS	EE
Thr	5.99[f]	5.90[g]	0.04	0.59	0.60	0.01
Arg	3.48	3.51	0.02	0.57	0.58	0.01
Val	5.06	5.07	0.12	0.73	0.74	0.01
Met	1.30	1.26	0.06	0.28	0.28	0.01
Ile	4.08	4.02	0.11	0.68	0.68	0.01
Leu	5.87	6.01	0.11	0.81	0.84	0.02
Phe	3.32[e]	3.43[d]	0.04	0.47	0.48	0.01
Lis	11.24	10.94	0.21	0.94	0.94	0.01
His	2.87[e]	2.97[d]	0.04	0.19	0.19	0.01
AAE[b]	43.04	43.14	0.49	5.25	5.33	0.09
AANE[c]	56.96	56.86	0.49	4.80	4.90	0.07
Total	-	-	-	10.05	10.24	0.16

[a] GB = Grupo bacteriano, considerando BL ó BS en el cálculo.
[b] Incluye Thr; Arg; Val; Met; Ile; Leu; Phe; Lys; His.
[c] Incluye Ala; Asp; Glu; Gly; Pro; Ser; Tyr.
[d, e] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).
[f, g] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.10$).

CONCLUSIONES

El perfil de AAE de las poblaciones BL y BS, y el flujo estimado a partir de la composición de BL y BS fue muy similar. Sin embargo, tanto el pH como la TD afectaron al perfil de AAE de las bacterias BL y BS, así como al flujo de AAE de origen bacteriano. Las diferencias fueron mayores en la estimación del flujo (g/d) que en el perfil (g/100g AA), lo que indica que la estimación del flujo de materia microbiana (dependiente de la relación N:purinas) tiene un impacto importante en la estimación del flujo de AA de origen microbiano. El flujo estimado de AAE de origen bacteriano fue mayor en TDL comparado con TDR, aunque la magnitud del incremento varió en función de la población microbiana utilizada. La estimación precisa del flujo de AA de origen bacteriano al intestino delgado debe considerar las condiciones de fermentación ruminal, y la composición química y contribución parcial de los grupos bacterianos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Calsamiglia, S., A. Ferret, M. Devant. 2002. J. Dairy Sci. 85:574.
Craig, W, G. Broderick, D. Bradford. 1987. J. Nutrition 117:56.
Martin, C., L. Bernard, B. Michalet-Doreau.1996. J. Anim. Sci. 74:1157.
Statistical Analysis System. 1988. SAS user's guide. SAS Institute, Cary, NC.
Storm, E., E. R. Ørskov. 1983. Br. J. Nut. 50:479.
Whitehouse, N. L., V. M. Olson, C. G. Schwab, W. R. Chesbro, K. D. Cunningham, T. Lycos. 1994. J. Anim. Sci. 72:1335.
Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, L. M. Rode. 2001. J. Anim. Sci. 79:2736.

Financiado por el proyecto CICYT AGF97-0444

PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA ORGÁNICA DE SILOS DE MAÍZ MEDIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS

A. García-Rodríguez[1], A. Igarzabal[1], L. Lorenzo[1], L. M. Oregui[1] y G. Flores[2]
[1] NEIKER, A.B. - Granja Modelo de Arkaute, Apartado 46, 01080 Vitoria-Gasteiz
[2] Centro de Investigacions Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10, 15080 A Coruña

INTRODUCCIÓN

El silo de maíz es un componente importante de la ración del vacuno lechero por lo que resulta de interés disponer de técnicas *in vitro* que permitan una valoración rápida y adecuada de este alimento. En este sentido, la técnica de producción de gas se ha utilizado para predecir la digestibilidad *in vivo* de otros forrajes como hierba fresca (Chenost *et al.*, 2001) y heno (Khazaal *et al.*, 1995) de una forma adecuada. Sin embargo, en la bibliografía no se ha encontrado que la técnica de producción de gas se haya empleado en la valoración de silos de maíz.

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue comprobar si la técnica de producción de gas se puede utilizar como herramienta a la hora de determinar la digestibilidad aparente de la materia orgánica (DMO) de silos de maíz.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se seleccionaron 27 muestras de silos de maíz de la colección del CIAM considerando su rango de variación de la DMO (media=669 g Kg^{-1} MS; rango=161 g Kg^{-1} MS) y la disponibilidad de los contenidos medios de PB (71 g Kg^{-1} MS), FND (511 g Kg^{-1} MS), FAD (293 g Kg^{-1} MS), almidón (228 g Kg^{-1} MS), pH (3,8) y determinándose de forma paralela la materia seca (293 g Kg^{-1} MF).

Para el ensayo de producción de gas se emplearon como fuente de inóculo ruminal cuatro ovejas Latxas fistuladas en el rumen. La ración consistió en heno de alfalfa y cebada (70:30 MS) repartido en dos raciones iguales (8:30; 17:30) con el objetivo de satisfacer 1,2 veces las necesidades de mantenimiento.

La recolección del contenido ruminal se realizó antes de la distribución de la ración de la mañana (8:00). Una vez filtrado a través de 3 gasas se recogió en termos previamente calentados. El líquido ruminal así obtenido se transportó al laboratorio donde se procedió de nuevo a su filtrado a través de 3 gasas mezclando los contenidos bajo flujo permanente de CO_2. De cada muestra se pesaron por triplicado 500 mg MS en botellas de suero de 125 ml y se inocularon con líquido ruminal (10 ml) y buffer (40 ml). Las botellas se sellaron herméticamente y se incubaron en un baño de agua a temperatura constante (39ºC±0,1).

La determinación de la producción de gas *in vitro* se realizó mediante la técnica descrita por (Mauricio *et al.*, 1999). La lectura de la presión acumulada en la cabeza de botella, previa agitación, se realizó a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas tras la inoculación liberando posteriormente el gas acumulado. Los volúmenes de gas se corrigieron por la cantidad de gas liberado por un blanco (buffer más líquido ruminal) y por la cantidad de materia orgánica incubada en cada botella. El perfil de producción de gas se obtuvo a partir de dos series diferentes que tienen lugar en dos semanas distintas ajustándolo al modelo $p=A+B(1-e^{-ct})$ (Orskov y McDonald, *1979*), donde A representa la fracción inmediatamente soluble, B la fracción insoluble pero potencialmente degradable y c representa la tasa de producción de gas. Al final de la reacción se midió el pH de cada botella.

Con el objetivo de establecer la posible relación entre la digestibilidad aparente de la materia orgánica y los parámetros de la curva de producción de gas (producción acumulada o parámetros resultantes de la modelización), contenido en proteína bruta, FND, FAD, almidón, pH y materia seca corregida del silo, se utilizó el procedimiento de regresión múltiple (selection stepwise)(S.A.S, *1988*).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La relación entre la producción de gas y la desaparición de material fue lineal ya que el pH al final de la reacción se mantuvo en todas las muestras por encima de 6,0 (Pell y Schofield, *1993*).

Los parámetros seleccionados por el procedimiento de regresión múltiple y las ecuaciones de predicción de la DMO resultantes se encuentran en la tabla 1.

Tabla 1 Ecuaciones de predicción de la DMO a partir de la producción acumulada de gas, PB, FND, FAD, almidón, pH y materia seca corregida.

Ecuación y parámetros utilizados	R^2	P<	rsd
(1) DMO=649,96+3,92(G24)-2,86(G96)	0,533	0,0001	30,09
G24	*0,462	0,0031	
G96	*0,071	0,0680	
(2) DMO=109,13+2,03(G24)+1,39(PB)	0,604	0,0001	27,72
G24	*0,462	0,0001	
PB	*0,142	0,0073	
(3) DMO=293,02+1,90(G24)-38,53(pH) +1,29(PB)	0,669	0,0001	25,86
G24	*0,462	0,0001	
PB	*0,142	0,0073	
pH	*0,065	0,0432	
(4) DMO=431,21+3824,02(c)	0,410	0,0003	33,13
(5) DMO=-61,43+1,43(B)+2942,5(c)+1,4(PB)	0,588	0,0001	28,86
c	0,410	0,0075	
B	0,084	0,0411	
PB	0,094	0,0107	
(6) DMO=549,27+4137,78(c)-55,18(pH)+1,04(PB)	0,644	0,0001	26.82
c	0,410	0,0001	
pH	0,151	0,0063	
PB	0,083	0.0300	

*: R^2 parciales
DMO: digestibilidad aparente de la materia orgánica (g Kg^{-1} MS)
PB: proteína bruta (g Kg^{-1})
G24, G72, G96: producción acumulada de gas (ml g^{-1} MO) a las 24, 72 y 96 horas respectivamente
B, c: parámetros resultantes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979)

Las ecuaciones de predicción de la DMO obtenidas utilizando los valores puntuales de la curva de producción acumulada de gas fueron superiores a las alcanzadas por las resultantes de utilizar las constantes del ajuste tanto en precisión (rsd=30,09 *vs.* rsd=33,13) como respecto a la varianza explicada (R^2=0,533 *vs.* R^2=0,410). En ambos casos se encontró que un único parámetro (c y G24) asumió la mayor parte de esta varianza explicada (R^2=0,410, R^2=0,462, respectivamente) lo que indicaría que la DMO esta más influenciada por la disponibilidad que por el contenido total de nutrientes. Similares resultados han sido encontrados para silo de

hierba (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2003), para hierba fresca y para henos (Chenost *et al.*, 2001)

La predicción mejoró en ambos casos al incorporar a la ecuación el contenido en proteína de los silos (tabla 1). Similares resultados han sido descritos para henos (Khazaal *et al.*, 1995; Chenost *et al.*, 2001) y para silos de hierba (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2003). Esto puede ser debido a que la producción total de gas procedente de la fermentación de proteína es menor que la de los hidratos de carbono (Menke y Steingass, *1988*). Por lo tanto, la digestibilidad de aquellos alimentos con mayor contenido en proteína puede verse infravalorada en las ecuaciones de predicción en las que sólo se utilicen parámetros estimados a partir de la producción de gas.

La incorporación de los parámetros indicadores de la conservación del silo, en particular el pH, junto con parámetros de analítica química en el modelo de regresión múltiple mejoraron la predicción de la digestibilidad (tabla 1). Ello podría asociarse a una mejor conservación de los componentes hidrosolubles del silo (proteína e hidratos de carbono) cuanto menor es el pH, para un mismo contenido en MS. Sin embargo el pH es un parámetro que esta sujeto a modificaciones durante el proceso de muestreo y su remisión al laboratorio por lo que el pH laboratorial puede no representar fielmente al que tenia el silo. Por consiguiente, en caso de trabajar con silos en los que no se tenga la certeza de una óptima toma de muestras, silos de explotaciones comerciales, sería conveniente utilizar las ecuaciones que considera los resultados de producción de gas y los parámetros de la analítica química sin que ello suponga un incremento importante en el error de predicción.

Los R^2 alcanzados fueron inferiores a los descritos para silos de hierba (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2003) pudiendo haber sido debido al menor rango de variación inicial de la DMO para los silos de maíz (161 g Kg^{-1} MS). Sin embargo, la precisión en la estimación fue incluso superior a la descrita para silos de hierba y similar a la de otros métodos *in vitro* como el método de la celulasa neutro detergente (R^2=0,664; rsd=25,8)(Givens *et al.*, 1995). Por otro lado, la técnica de producción de gas permite estimar parámetros de cinética de degradación lo cual facilitaría la obtención de estimas de la digestibilidad efectiva.

En conclusión, la técnica de producción de gas, en combinación con el contenido en proteína bruta y el pH del silo, permite una buena estimación de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de maíz.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chenost, M., Aufrere, J. y Macheboeuf, D. (2001). *Anim. Res.* **50**: 349-364.

Garcia-Rodriguez, A., Igarzabal, A., Lorenzo, L., Oregui, L. M. y Flores, G. (2003). *ITEA*: En prensa.

Givens, D. I., Cottyn, B. G., Dewey, P. J. S. y Steg, A. (1995). *Anim. Feed Sci. Technol.* **54**: 55-64.

Khazaal, K., Dentinho, M. T., Ribeiro, J. M. y Orskov, E. R. (1995). *Anim. Sci.* **61**: 527-538.

Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Kulwant, C. S. y Theodorou, M. K. (1999). *Anim. Feed Sci. Technol.* **79**: 321-330.

Menke, K. H. y Steingass, H. (1988). *An. Res. Develop.* **28**: 7-55.

Orskov, E. R. y McDonald, I. (1979). *J. Agric. Sci. (Camb.)* **92**: 499-503.

Pell, A. N. y Schofield, P. (1993). *J. Dary Sci.* **76**: 1063-1073.

S.A.S (1988). SAS/Stat User's Guide. Cary, NC, Estados Unidos.

PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA ORGÁNICA DE SILOS DE HIERBA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS. I. CÁLCULO DE LAS ECUACIONES DE PREDICCIÓN

A. García-Rodríguez[1], A. Igarzabal[1], L. Lorenzo[1], L. M. Oregui[1] y G. Flores[2]
[1] NEIKER, A.B. - Granja Modelo de Arkaute, Apartado 46, 01080 Vitoria-Gasteiz
[2] Centro de Investigacions Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10, 15080 A Coruña

INTRODUCCIÓN

El silo de hierba es un componente importante de la ración del vacuno y ovino lechero lo que muestra en interés de disponer de metodologías que permitan una valoración rápida y adecuada de este alimento. En este sentido, la técnica NIR permite una obtención rápida de resultados, pero exige disponer de un gran número de muestras previamente valoradas. Este hecho puede ser problemático a la hora de determinar la digestibilidad aparente de la materia orgánica (DMO) o la cinética de degradación ruminal ya que se necesita una determinación *in vivo* o *in situ* que resulta costosa tanto en tiempo como en mano de obra. La técnica de producción de gas permite estimar estos parámetros de una forma rápida y económica. Es por ello, que el objetivo de este trabajo ha sido el desarrollo de ecuaciones predicción de la DMO de silos de hierba a través de la técnica de producción de gas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se seleccionaron 74 muestras de silos de hierba de la colección del CIAM en base a su rango de variación de la DMO (media=665 g Kg^{-1} MS; rango=324 g Kg^{-1} MS) y se determinaron los contenidos medios de PB (136 g Kg^{-1} MS), FND (531 g Kg^{-1} MS), FAD (359 g Kg^{-1} MS), pH (4,4) y materia seca (234 g MS Kg^{-1} MF).

La metodología seguida para el desarrollo de la técnica de producción de gas se describe en la comunicación complementaria de este mismo volumen (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2003).

El perfil de producción de gas obtenido se ajustó al modelo $p=A+B(1-e^{-ct})$ (Orskov y McDonald, 1979), donde A representa la fracción inmediatamente soluble, B la fracción insoluble pero potencialmente degradable y c corresponde a la tasa de degradación ruminal, siendo t el tiempo transcurrido desde la inoculación del líquido ruminal.

Con el objetivo de establecer la posible relación entre la digestibilidad aparente de la materia orgánica y los parámetros de la curva de producción de gas (producción acumulada o parámetros resultantes de su ajuste al modelo anteriormente descrito), contenido en PB, FND, FAD, pH y materia seca del silo, se utilizó el procedimiento de regresión múltiple (selection stepwise)(S.A.S 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todos los análisis realizados el pH al final del periodo de incubación se mantuvo por encima de 6,0, lo que permite asumir que desaparición de MO y la producción de gas mantuvieron una relación lineal (Pell y Schofield, 1993).

Los parámetros seleccionados por el procedimiento de regresión múltiple y las ecuaciones de predicción de la DMO resultantes se encuentran en la tabla 1.

Se han encontrado buenas correlaciones entre la DMO y los parámetros resultantes del ajuste al modelo (tabla 1; R^2=0,706; rsd=41,40). En consonancia con lo encontrado por otros autores (Khazaal *et al.*, 1993), se encontraron valores medios negativos del parámetro A lo que indicaría la existencia de una fase de

latencia. La tasa de degradación (c) explica un mayor porcentaje de la varianza de la DMO (R^2=0,512) frente a los parámetros B (R^2=0,155) y A (R^2=0,039), pudiendo indicar que en estos silos la DMO esta más influenciada por la disponibilidad que por el contenido total de nutrientes.

Tabla 1 Ecuaciones de predicción de la DMO a partir de la producción acumulada de gas, modelización, PB, FND, FAD, pH y materia seca.

Ecuación y parámetros	R^2	P<	rsd
(1) 567.60+7,02(G12)-17,87(G15)+11,09(G19)+10,97(G36)-9.94(G72)	0,793	0,0001	35,23
G15	* 0,433	0,0015	
G12	* 0,131	0,0153	
G72	*0,043	0,0001	
G36	*0,169	0,0011	
G19	*0,017	0,0195	
(2) 181,15-8,47(G15)+10,52(G19)-0,73(G96)+0,92(CP)	0,829	0,0001	31,80
G15	*0,115	0,0001	
G19	*0,492	0,0001	
G96	*0,017	0,0116	
CP	*0,205	0,0001	
(3) 302,27-1,78(G2)-8,91(15)+11,08(G19)-0,77(G96)+0,21(MS)-36,00(pH) +0,97(CP)	0,868	0,0001	28,50
G2	*0,008	0,0419	
G15	*0,115	0,0001	
G19	*0,492	0,0001	
G96	*0,017	0,0039	
MS	*0,018	0,0008	
pH	*0,013	0,0001	
CP	*0,205	0,0001	
(4) 163,16-1,73(A)+0,96(B)+4565,60(c)	0,706	0,0001	41,40
A	*0,039	0,0033	
B	*0,155	0,0001	
c	*0,512	0,0001	
(5) 226,03+1,40(B)+1777,10(c)+0,79(CP)-0,25(FND)	0,801	0,0001	34,30
B	*0,155	0,0001	
c	*0,512	0,0027	
CP	*0,116	0,0001	
FND	*0,018	0,0146	
(6) 303,33-1,78(A)+0,91(B)+4711,46(c)-31,39(pH)	0,744	0,0001	38,87
A	*0,039	0,0013	
B	*0,155	0,0001	
c	*0,512	0,0001	
pH	*0,038	0,0019	
(7) 170,41+1,35(B)+2684,35(c)+1,00(CP)-32,09(pH)	0,823	0,0001	32,32
c	*0,512	0,0001	
B	*0,155	0,0001	
CP	*0,116	0,0001	
pH	*0,040	0,0002	

*:R^2 parciales

G2, G12, G15, G19, G36, G72, G96: producción acumulada de gas (ml g^{-1} MO) a las 2, 12, 15, 19, 36, 72 y 96 horas tras la inoculación.

A, B, c: parámetros resultantes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979).

CP: contenido en proteína bruta (g Kg^{-1} MS)

FND: contenido en fibra neutro detergente (g Kg^{-1} MS)

MS: contenido en materia seca (g Kg^{-1} MS)

Sin embargo, la utilización de los coeficientes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979) no ofrece ninguna ventaja estadística frente a la utilización de valores puntuales de la producción acumulada de gas en lo que se refiere a la predicción de la DMO (0,706 *vs.* 0,793). La producción acumulada de gas durante las horas iniciales (24 h) explica un mayor porcentaje de la varianza que la producción acumulada durante las horas finales (0,581 *vs.* 0,212). Producciones de gas altas en horas iniciales indican contenidos altos en hidratos de carbono solubles (Blümmel y Becker, 1997) o una mayor disponibilidad de la materia orgánica.

La precisión de la estimación de la DMO se ve mejorada al introducir parámetros de analítica química, siendo el contenido en PB el principal responsable de esta mejora. Esto puede ser debido a que la producción total de gas procedente de la fermentación de proteína es menor que la de los hidratos de carbono (Menke y Steingass, 1988). Por lo tanto, la digestibilidad de aquellos alimentos con mayor contenido en proteína puede verse infravalorada en las ecuaciones de predicción en las que sólo se utilicen parámetros estimados a partir de la producción de gas.

La inclusión de parámetros de ensilabilidad (pH y MS), ya sea solos o en combinación con parámetros de analítica química mejoran mínimamente la precisión de la estimación. Ello podría asociarse a una mejor conservación del material ensilado a menor pH para un mismo contenido en MS, en especial de sus componentes hidrosolubles (proteína e hidratos de carbono). Sin embargo, el pH es un parámetro que esta sujeto a modificaciones durante el proceso de muestreo y su remisión al laboratorio, por lo que el pH laboratorial puede no representar fiablemente al del silo.

La precisión alcanzada mediante cualquiera de las ecuaciones descritas en la tabla 1 es superior a la alcanzada mediante técnicas basadas en el contenido de paredes celulares (MADFF: R^2=0,34; rsd=51), técnicas enzimáticas (R^2=0,55; rsd= 42), y el método Tilley y Terry (1963)(R^2=0,74; rsd=32) (Barber *et al.,* 1990). Además, la técnica de producción de gas presenta la ventaja añadida de aportar una estima de la cinética de degradación ruminal, por lo que aporta información no sólo de la digestibilidad potencial sino también de la digestibilidad efectiva del animal, en función del modo de inclusión del alimento en el conjunto de la dieta.

En conclusión, la técnica de producción de gas permite obtener buenas ecuaciones de predicción de la DMO de silos de hierba, que sin embargo, precisan ser validadas para evaluar su robustez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barber, G. D., Givens, D. I., Kridis, M. S., Offer, N. W. y Murray, I. (1990). *Anim. Feed Sci. Technol.* **28**: 115-128.

Blümmel, M. y Becker, K. (1997). *Br. J. Nutr.* **77**: 757-768.

Garcia-Rodriguez, A., Lorenzo, L., Igarzabal, A., Oregui, L. M. y Flores, G. (2003). *ITEA*: En este volumen

Khazaal, K., Dentinho, M. T., Ribeiro, J. M. y Orskov, E. R. (1993). *Anim. Prod.* **57**: 105-112.

Menke, K. H. y Steingass, H. (1988). *An. Res. Develop.* **28**: 7-55.

Orskov, E. R. y McDonald, I. (1979). *J. Agric. Sci. (Camb.)* **92**: 499-503.

Pell, A. N. y Schofield, P. (1993). *J. Dary Sci.* **76**: 1063-1073.

S.A.S (1988). SAS/Stat User's Guide. Cary, NC, Estados Unidos.

Tilley, J. M. y Terry, R. A. (1963). *J. Br. Grassl. Soc.* **18**: 104-111.

PREDICCIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LA MATERIA ORGÁNICA DE SILOS DE HIERBA MEDIANTE LA TÉCNICA DE PRODUCCIÓN DE GAS. II. VALIDACIÓN DE LAS ECUACIONES DE PREDICCIÓN

A. García-Rodríguez[1], L. Lorenzo[1], A. Igarzabal[1], L. M. Oregui[1] y G. Flores[2]
[1] NEIKER, A.B. - Granja Modelo de Arkaute, Apartado 46, 01080 Vitoria-Gasteiz
[2] Centro de Investigacions Agrarias de Mabegondo (CIAM). Apartado 10, 15080 A Coruña

INTRODUCCIÓN

La técnica de producción de gas ha permitido la obtención de ecuaciones de predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica (DMO) de silos de hierba. Sin embargo, es necesario establecer si estas ecuaciones son aptas para su uso. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo ha sido la validación de las ecuaciones obtenidas para la estimación de la DMO de silos de hierba.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las ecuaciones de predicción de la DMO de silos de hierba utilizadas a partir de la producción de gas *in vitro* corresponden a las descritas por Garcia-Rodriguez *et al.*, (2003).

Para el ensayo de producción de gas se emplearon como fuente de inoculo ruminal cuatro ovejas Latxas fistuladas en el rumen. La ración consistió en heno de alfalfa y cebada (70:30 MS) repartido en dos raciones iguales (8:30; 17:30) y cubriendo 1,2 veces las necesidades de mantenimiento.

La recolección del contenido ruminal se realizó antes de la distribución de la ración de la mañana (8:00). Una vez filtrado a través de 3 gasas se recogió el líquido ruminal de cada oveja termos previamente calentados. Una vez obtenido se transportó al laboratorio donde se procedió de nuevo a su filtrado a través de 3 gasas mezclando los contenidos bajo flujo permanente de CO_2 y en baño termostatizado. De cada muestra se pesaron por triplicado 500 mg MS en botellas de suero de 125 ml y se inocularon con líquido ruminal (10 ml) y buffer (40 ml) preparado de víspera (Mauricio *et al.*, 1999). Las botellas se sellaron herméticamente y se incubaron en un baño maría a temperatura constante (39ºC).

La determinación de la producción de gas *in vitro* se realizó mediante la técnica descrita por (Mauricio *et al.*, 1999). La lectura de la presión acumulada en el espacio de cabeza de cada botella, previa agitación, se realizó a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas tras la inoculación, liberando posteriormente el gas acumulado. Los volúmenes de gas se corrigieron por la cantidad de gas liberado por un blanco (buffer más líquido ruminal) y por la cantidad de materia orgánica incubada en cada botella. El perfil de producción de gas se obtuvo a partir de dos series diferentes que tienen lugar en dos semanas distintas ajustándolo al modelo $p=A+B(1-e^{-ct})$ (Orskov y McDonald, *1979*), donde A representa la fracción inmediatamente soluble, B la fracción insoluble pero potencialmente degradable y c representa la tasa de producción de gas. Al final de la reacción se midió el pH de cada botella.

Para la validación de los modelos predictivos se utilizó un proceso secuencial de validación cruzada en el cual del conjunto de calibración era excluida secuencialmente una de las muestras, sobre la que se realizó la validación de la predicción de la digestibilidad *in vivo* a partir del modelo de calibración generado (Flores *et al.*, 2002). Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SAS (S.A.S., 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ecuaciones de predicción de la DMO, los coeficientes de determinación resultantes (R^2) y los errores mínimos (rsd), tanto de la validación como de la calibración se encuentran descritos en la tabla 1.

Tabla 1 Ecuaciones de predicción de la DMO a partir de la producción acumulada de gas, modelización, PB, FND, FAD, pH y materia seca.

Ecuaciones y parámetros	Calibración		Validación Cruzada		
	R^2_c	rsd_c	R^2_{cv}	rsd_{cv}	BIAS
(1) 567,60+7,02(G12)-17,87(G15)+11,09(G19) +10,97(G36)-9,94(G72)	0,793	35,23	0,748	37,59	-0,05
(2) 181,15-8,47(G15)+10,52(G19)-0,73(G96)+0,92(CP)	0,829	31,80	0,806	32,93	0,10
(3) 302,27-1,78(G2)-8,91(15)+11,08(G19)- 0,77(G96)+0,21(MS)-36,00(pH) +0,97(CP)	0,868	28,50	0,831	30,76	0,45
(4) 163,16-1,73(A)+0,96(B)+4565,60(c)	0,706	41,40	0,674	42,71	-0,28
(5) 226,03+1,40(B)+1777,10(c)+0,79(CP)-0,25(FND)	0,801	34,30	0,773	35,65	-0,32
(6) 303,33-1,78(A)+0,91(B)+4711,46(c)-31,39(pH)	0,744	38,87	0,704	40,71	0,19
(7) 170,41+1,35(B)+2684,35(c)+1,00(CP)-32,09(pH)	0,823	32,32	0,787	34,54	0,26

G2, G12, G15, G19, G36, G72, G96: producción acumulada de gas (ml g^{-1} MO) a las 2, 12, 15, 19, 36, 72 y 96 horas tras la inoculación.
A, B, c: parámetros resultantes del ajuste al modelo de Orskov y McDonald (1979).
CP: contenido en proteína bruta (g Kg^{-1} MS)
FND: contenido en fibra neutro detergente (g Kg^{-1} MS)
MS: contenido en materia seca (g Kg^{-1} MS)

Las ecuaciones presentan un alto valor predictivo alcanzando altos valores de varianza expresada y bajos valores de errores mínimos tras la validación. Además, los BIAS obtenidos para todas las ecuaciones se encuentran en torno a cero indicando que los errores se distribuyen homogéneamente en torno a las rectas de calibración.

El ranking de las ecuaciones de predicción en validación fue el mismo que el obtenido en calibración (Garcia-Rodriguez *et al.*, 2003). La capacidad predictiva de estas ecuaciones fue superior a la descrita para otras ecuaciones validadas que se basan en el contenido en pared celular (MADF: R^2_{cv}=0,20; rsd_{cv}=51,0; LIGA: R^2_{cv}=0,14; rsd_{cv}=51,3), ecuaciones basadas en técnicas enzimáticas (pepsina-celulasa: R^2_{cv}=0,40; rsd_{cv}=47,0) y el método de Tilley y Terry (1963) (R^2_{cv}=0,64; rsd_{cv}=36,0). De todas las ecuaciones descritas basadas bien en la producción puntual acumulada de gas o bien en el ajuste, tanto en validación como en calibración, las que menor error de predicción presentan son las ecuaciones 3 y 7 (tabla 1). Sin embargo, dada la posible problemática que conlleva la utilización del pH de la muestra del laboratorio se sugieren aquellas ecuaciones en las que no se ha incluido esta variable, siendo por tanto las ecuaciones 2 y 5 (tabla 1) las que menores errores mínimos presentan.

En conclusión, la técnica de producción de gas permite la obtención de ecuaciones de predicción de la digestibilidad aparente de la materia orgánica de silos de hierba suficientemente robustas como para utilizarlas rutinariamente en laboratorio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Flores, G., Gonzalez-Arraez, A., Castro, J., Castro, P. y Cardelle, M. (2002). Predicción de la digestibilidad in vivo de la materia orgánica de ensilajes de maíz a partir de la composición química y digestibilidad in vitro. XLII Reunión Científica de la SEEP, Lleida (España),407-412 pp.

Garcia-Rodriguez, A., Igarzabal, A., Lorenzo, L., Oregui, L. M. y Flores, G. (2003). Predicción de la digestibilidad de la materia orgánica de silos de hierba mediante la técnica de producción de gas.I. Cálculo de las ecuaciones de predicción. *ITEA*: En este mismo volumen.

Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S. y Theodorou, M.K. 1999. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Animal Feed Science and Technology* **79**: 321-330

Orskov, E. R. y McDonald, I. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. (Camb.)* **92**: 499-503.

S.A.S (1988). SAS/Stat User's Guide. Cary, NC, Estados Unidos.

Tilley, J. M. y Terry, R. A. (1963). A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* **18**: 104-111.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 717-719

SÍNTESIS MICROBIANA EN FERMENTADORES SEMICONTINUOS (RUSITEC): EFECTO DEL TIPO DE FUENTE DE NITRÓGENO (AMONIACO vs PROTEÍNA)

M.L. Tejido, M.D. Carro, S. López y M.J. Ranilla

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24007 LEON

INTRODUCCIÓN

A pesar de que en la bibliografía se recogen numerosos estudios acerca del efecto del tipo de fuente nitrogenada (N; nitrógeno amoniacal vs. nitrógeno no amoniacal) aportadas en las dietas de los rumiantes sobre el crecimiento de los microorganismos ruminales, los resultados obtenidos hasta el momento muestran una considerable controversia. Muchos de estos trabajos se han centrado en estudiar el efecto de las distintas fuentes de N sobre la fermentación ruminal usando dietas ricas en hidratos de carbono estructurales, y han asumido que las bacterias suspendidas en la fase líquida (LAB) son representativas de todos los microorganismos ruminales. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de dos tipos de fuentes nitrogenadas (N amoniacal vs. N proteico) sobre la síntesis de proteína por las LAB y por las bacterias asociadas a la fase sólida (SAB), en fermentadores semicontinuos (Rusitec) usando una ración rica en hidratos de carbono no estructurales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando el Rusitec, un rumen artificial de tipo semicontinuo, (Czerkawski y Breckenridge, 1977) provisto de ocho vasijas. Las vasijas recibieron una ración formada por una mezcla con un 70% de almidones (almidón de trigo, maíz y patata) y un 30% de FND obtenida de un pasto de rye-grass. El aporte diario de N (400 mg/vasija/d) se realizó mediante infusión continua junto con la saliva artificial (600 ml/vasija/d). Cuatro de las vasijas recibieron como fuente de N cloruro amónico y las otras cuatro una mezcla al 50% de cloruro amónico y proteína purificada de soja.

El primer día del experimento se inoculó cada una de las vasijas con contenido ruminal (líquido filtrado y partículas de digesta sólida) procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 50:50. La duración del experimento fue de 15 días: 7 días de adaptación a la dieta y 8 días de muestreo. Diariamente se introdujo una bolsa de nailon conteniendo 16 g de materia seca (MS) de la ración basal y se mantuvo dentro de la vasija durante 48 h. Durante los días 8-11 se midió la producción diaria de ácidos grasos volátiles (AGV) y la desaparición de materia orgánica (MOD) de la bolsa tras 48 h de incubación. Los días 14 y 15 se tomaron muestras para determinar la síntesis microbiana, tanto de las SAB como de las LAB. Para ello se utilizó ^{15}N como marcador microbiano, el cual se infundió junto con la saliva artificial desde el día 9 hasta el final del experimento. Las SAB fueron desligadas del residuo sólido de incubación mediante el tratamiento de éste con una solución de metilcelulosa (0,1%)

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (LE38/01) y C.I.C.Y.T (AGF98-0188).

y las LAB fueron aisladas a partir de los efluentes líquidos de los fermentadores. Finalmente, se analizó el contenido en nitrógeno no amoniacal (NNA) y su enriquecimiento en ^{15}N en los pellet microbianos, en los residuos sólidos de incubación y en los efluentes.

La proporción de N microbiano en el residuo de incubación y en el efluente de los fermentadores se estimó como el cociente entre el enriquecimiento en ^{15}N de los residuos y el efluente y el enriquecimiento en ^{15}N de SAB o de LAB respectivamente. El efecto del tipo de N sobre los distintos parámetros estudiados se estudió mediante análisis de la varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como muestra la Tabla 1, la sustitución parcial de la fuente de nitrógeno amoniacal por proteína de soja resultó en una mayor síntesis microbiana ($p<0,05$) tanto de las SAB como de las LAB, y este aumento fue de un 34% para ambos tipos de bacterias. Esto se vio reflejado en una mayor ($p<0.001$) síntesis microbiana total en los fermentadores que recibieron N proteico. Estos resultados están en línea con los obtenidos para dietas ricas en fibra por Carro y Miller (1999) y Tejido et al. (2002) en fermentadores semicontinuos, quienes observaron un aumento en el crecimiento microbiano cuando se reemplazó parcialmente el N amoniacal por N proteico.

Tabla 1. Efecto del tipo de fuente de nitrógeno [Amoniaco vs. Proteína], sobre la síntesis de proteína microbiana de las bacterias asociadas a la fase sólida (SAB) y las bacterias suspendidas en la fase líquida (LAB), la desaparición de la materia orgánica (MOD) y sobre la eficiencia de la síntesis microbiana en un sistema de fermentación semicontinuo (Rusitec).

	Amoniaco	Proteína	e.e.d	p
SAB (mg N microb/d)	13,16	17,73	1,544	0,025
LAB (mg N microb/d)	84,62	113,27	5,508	0,002
TOTAL (mg N microb/d)	97,79	131,00	4,776	0,001
%LAB	86,54	86,37	1,457	0,910
MOD (%)	72,43	72,70	0,394	0,519
Eficiencia (g N microb/kg MOD)	8,50	11,78	0,569	0,001
AGV (mmol/día)	63,96	75,16	4,773	0,057

e.e.d: error estándar de la diferencia

La proporción de SAB fue aproximadamente 6 veces menor que la de LAB y esta relación no se vio afectada por el tipo de fuente de nitrógeno (13,5 y 13,6% para los tratamientos Amoniaco y Proteína, respectivamente). Esta baja proporción de las SAB es consecuencia del tipo de ración rica en hidratos de carbono no estructurales usada en este experimento.

La MOD no manifestó ningún cambio debido a la forma en la que se administró el N. Si consideramos este valor como una estimación de la degradabilidad de la

dieta, se trataría de una degradabilidad aparente, ya que el residuo de incubación incluye también los microorganismos ruminales adheridos a la fibra que no han sido eliminados mediante el lavado.

El aumento del crecimiento microbiano también se vio reflejado en un incremento en la eficiencia de síntesis de proteína microbiana (g N microbiano/kg MOD) cuando los microorganismos dispusieron de proteína como fuente de N. Los valores de eficiencia obtenidos en este experimento son inferiores a otros recogidos en la bibliografía (14-60g N/kg MOD). Este hecho puede ser debido a que dada la gran solubilidad de los almidones, parte de la mezcla de almidones usada como ración basal haya desaparecido de la bolsa de nailon por efecto del lavado y que realmente no haya sido degradada. Si la sobreestimación de la MOD es muy alta, esto podría explicar los bajos valores de eficiencia observados en este experimento.

En cuanto a la producción de AGV, ésta mostró una tendencia ($p=0,057$) a aumentar cuando se usó proteína como fuente de N, lo que podría indicar una mayor degradación de la dieta.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que tanto las LAB como las SAB pueden usar otras fuentes de N diferentes de la amoniacal. Además, con este tipo de dieta rica en hidratos de carbono no estructurales, la eficiencia de síntesis de proteína microbiana aumentó en un 39% cuando los microorganismos dispusieron de una fuente de N proteico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D. y Miller, E.L. (1999). Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal fermentation and microbial growth in an in vitro semi-continuos culture system (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 82: 149-157.

Czerkawski, J.W. y Breckenridge, G. (1977). Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 38: 371-384.

Tejido, M.L., Ranilla, M.J., López, S., Bodas, R. y Carro, M.D. (2002). Effect of supplementing a high fibre basal diet with two N sources (ammonia and saoyabean protein) on microbial growth in the rumen simulation fermenter Rusitec. *Reproduction Nutrition Development* 42 (suppl. 1): 70.

EFECTO DE LA ADICIÓN DE ENZIMAS EXÓGENAS Y DEL pH SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL DE DIETAS MIXTAS EN UN SISTEMA DE CULTIVOS CONTINUOS

G. Hervás[1,2], D. Colombatto[1,3], D.D. Vedres[1], A.F. Furtado[1], W.Z. Yang[1] y K.A. Beauchemin[1]

[1] Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge, AB T1J 4B1 (Canadá)
[2] Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 - 24080 León (España)
[3] Departamento de Producción Animal, FAUBA. Buenos Aires (Argentina)

INTRODUCCIÓN

El empleo de enzimas en la nutrición de los rumiantes no está aún extendido comercialmente, lo cual posiblemente responda a que apenas existe información concluyente sobre sus modos de acción y sobre las condiciones productivas en las que estos compuestos pueden ser efectivos.

Diversos trabajos científicos (Yang *et al.*, 1999, 2002; Beauchemin *et al.*, 2003) han señalado que la adición de mezclas enzimáticas a la dieta de los rumiantes puede incrementar la utilización digestiva de los alimentos (principalmente de los forrajes) pudiendo llegar a mejorar la eficiencia productiva de los animales. Sin embargo, este efecto puede variar dependiendo de múltiples factores, entre ellos el pH (Yang *et al.*, 2002), y por lo tanto, la utilización comercial de estos productos en la alimentación de los rumiantes requiere su caracterización previa.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de una preparación enzimática exógena a una dieta mixta sobre la fermentación microbiana ruminal, en un sistema de cultivos continuos, mantenido a dos pH diferentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 fermentadores contínuos de doble flujo (Hoover *et al.*, 1989) inoculados con líquido ruminal extraído de tres vacas lecheras canuladas en el rumen, 2 horas después de la administración de la comida de la mañana. Los tratamientos consistieron en dos pH ruminales (alto, A y bajo, B) y dos tratamientos de la dieta (control, C y con adición de un preparado enzimático, E). El experimento se realizó de acuerdo con un diseño de cuadrado latino con 4 períodos experimentales consecutivos de 9 días cada uno (6 de adaptación y 3 de medición).

El pH de la saliva se controló mediante la adición continua a los fermentadores de saliva artificial (McDougall, 1948) al 100% (pH alto, A) y al 60% (pH bajo, B).

Diariamente, se suministraron a cada fermentador 80 g MS de una dieta mixta, en dos proporciones iguales y a intervalos de 12 horas. Dicha dieta mixta contenía 30% de heno de alfalfa, 30% de silo de maíz fresco y 40% de maíz (%MS). La alfalfa se molió en un molino centrífugo a 4,5 mm, y el silo y los granos de maíz en un molino de cuchillas, durante 10 y 2 segundos, respectivamente. El silo de maíz se mantuvo a -40°C hasta el momento de ser utilizado.

Para el tratamiento E, 60 g (MF) de la dieta mixta se mezclaron con 0,5 mL de una solución que contenía 60 μL (1,5 L/Tn MS) de una preparación enzimática. Dicho preparado es un producto comercial (*Cargill Inc.*, St. Louis, MO, Estados Unidos) derivado de *Bacillus* sp., que al ser evaluado *in vitro* (Colombatto *et al.*, enviado) presentó principalmente actividad proteasa (4507 unidades/mL). También se detectaron, aunque en cantidades despreciables, actividades celulasa, hemicelulasa y α-amilasa. A la dieta control (C) se le añadió igual cantidad de agua

destilada. El tiempo de interacción de la enzima con la dieta mixta fue de entre 12 y 24 horas (a 4ºC).

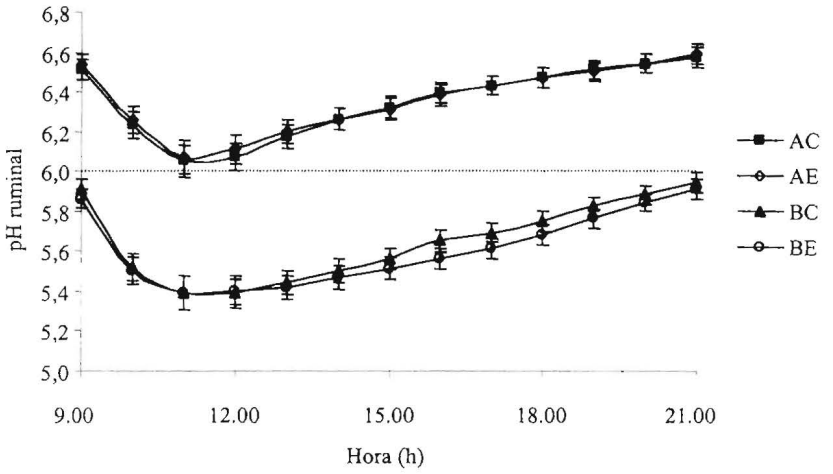
La temperatura de fermentación (39ºC), el mezclado (160 rpm), las condiciones de anaerobiosis (15 mL CO_2/min) y las tasas de dilución de los sólidos (4,5%/h) y de los líquidos (10%/h) en los fermentadores se mantuvieron constantes a lo largo de todo el experimento. Durante los 3 días de muestreo, de los efluentes (mantenidos a 4ºC) se tomaron muestras de 750 mL para su posterior análisis de laboratorio (MS, MO, PB, FND, FAD y almidón).

Los datos obtenidos se analizaron utilizando el procedimiento MIXED del SAS (1999) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la manipulación de la concentración de saliva artificial en los fermentadores se obtuvieron dos evoluciones de pH ruminal totalmente distintas (Figura 1). Sin embargo, la adición del preparado enzimático a la dieta mixta no afectó de manera significativa (P>0,10) a la evolución diurna del pH ruminal.

Figura 1.- Efecto del pH (A y B) y de la adición o no del preparado enzimático (C y E) a la dieta mixta sobre las fluctuaciones diurnas del pH ruminal, tras la administración de la comida de la mañana.



El efecto de la manipulación del pH y de la adición de enzimas exógenas a la dieta mixta no tuvo ningún efecto significativo (P>0,10) sobre la degradación de la MS, de la MO, ni del almidón (ver Tabla 1), a pesar de que otros autores han observado que a bajo pH la degradación aparente de la MS se ve reducida como consecuencia de una disminución de la actividad fibrolítica (Calsamiglia *et al.*, 2002). La menor degradación de la FND, de la FAD y, sobre todo, de la celulosa (Tabla 1; P<0,001) observada a bajo pH (B) estaría relacionada con la reducción encontrada en la población de bacterias celulolíticas (Colombatto *et al.*, 2003).

Por el contrario, la adición de la enzima a la dieta aumentó significativamente (P<0,01) la degradación de la FND, lo cual coincide con los resultados de Yang *et al.* (1999; 2002). Este aumento es debido, fundamentalmente, a una mayor degradación de la hemicelulosa (HCel), como puede comprobarse en la Tabla 1. La adición de la

preparación enzimática a la dieta mixta dio lugar a incrementos en la degradación de la HCel de un 55 y un 68% en los pH A y B, respectivamente.

En el caso de la PB (Tabla 1), la adición del preparado enzimático a la dieta mixta tendió a aumentar su degradación aparente (P<0,10), posiblemente como consecuencia de que dicho preparado poseía principalmente actividad proteolítica.

Tabla 1.- Efecto del pH (A y B) y de la adición o no del preparado enzimático (C y E) a la dieta mixta sobre la degradación ruminal (%) de MS, MO, PB, FND, FAD, LAD, hemicelulosa (HCel), celulosa (Cel) y almidón (Alm).

	Tratamiento					Nivel de significación		
	AC	**AE**	**BC**	**BE**	eem	pH	Enzima	pH × Enzima
MS	55	58	55	59	1,8	NS	NS	NS
MO	56	59	55	56	1,8	NS	NS	NS
PB	15	17	16	22	3,8	NS	†	NS
FND	24	34	17	21	4,1	***	**	NS
FAD	28	35	15	14	5,2	***	NS	NS
LAD	18	24	19	21	5,8	NS	NS	NS
HCel	18	33	19	28	3,4	NS	***	NS
Cel	31	37	14	13	5,2	***	NS	NS
Alm	92	93	93	94	13,9	NS	NS	NS

eem, error estándar de la media.
NS = no significativo (P>0,10); † = P<0,10; ** = P<0,01; *** = P<0,001.

En conclusión, podría decirse que la adición del preparado enzimático aquí estudiado a una dieta mixta puede mejorar la degradación de la fibra (especialmente de la hemicelulosa), debido probablemente a que dicha preparación enzimática actúe sobre las barreras estructurales de los alimentos (proteínas estructurales de la pared celular), mejorando así la accesibilidad de los microorganismos ruminales. Este efecto se observa incluso cuando las condiciones de pH no son las óptimas.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo, Gonzalo Hervás disfrutó de una ayuda para estancias breves en el extranjero del Plan Nacional de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCyT).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beauchemin, K.A.; Colombatto, D.; Morgavi, D.P. & Yang, W.Z. 2003. *J. Anim. Sci.* (en prensa).

Calsamiglia, S.; Ferret, A. & Devant, M. 2002. *J. Dairy Sci.* 85, 574-579.

Colombatto, D., Hervás, G. & Beauchemin, K.A. 2003. In: *Conference on Gastrointestinal Function*, Chicago, Illinois (Estados Unidos), p. 17.

Colombatto, D.; Morgavi, D.P.; Furtado, A.F. & Beauchemin, K.A. *J. Anim. Sci.* (enviado).

Hoover, W.H., Miller, T.K., Stokes, S.R. & Thayne, W.V. 1989. *J. Dairy Sci.* 72, 2991-2998.

McDougall, E.I. 1948. *Biochem. J.* 43, 99-109.

SAS. 1999. User´s Guide Int. (v. 8). SAS Inst. Inc., Cary, NC, Estados Unidos.

Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. & Rode, L.M. 1999. *J. Dairy Sci.* 82, 391-403.

Yang, W.Z., Beauchemin, K.A. & Vedres, D.D. 2002. *Anim. Feed Sci. Technol.* 102, 137-150.

ESTUDIO DEL EFECTO DE UNA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES Y EL TIPO DE RACIÓN SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA RUMINAL Y EL FLUJO DE NUTRIENTES EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTINUO

L. Castillejos[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y R. Losa[2]
[1]Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra.
[2]AKZONOBEL/CRINA SA, 15 Chemin de la Combe, 1196 Gland, Switzerland

INTRODUCCIÓN

La agricultura es responsable del 85% de la contaminación de las aguas subterráneas (Van Bruchem *et al.*, 1999) y origina el 97% de las emisiones de amoníaco al medio ambiente (AEMA, 1997). El ganado bovino en España produce la mitad de las heces generadas por la actividad ganadera (Coll, 1995) y excreta grandes cantidades de N debido al uso ineficiente de este nutriente (Kohn *et al.*, 1997). La retención media de N en forma de leche o carne es del 14% del N ingerido por el vacuno lechero (Korevvar, 1992). Tamminga (1992) indicó que la mayor parte de las pérdidas de N se originan en el rumen.

Los aceites esenciales son extractos de plantas con propiedades antimicrobianas que actúan sobre la flora microbiana del rumen disminuyendo la degradación de la proteína (McIntosh *et al.*, 2000) y modificando el perfil de fermentación (Evans y Martin, 2000).

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la adición de una mezcla de aceites esenciales sobre la fermentación microbiana y el flujo de nutrientes en dos raciones diferentes en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando 8 fermentadores (1320 ml) continuos de flujo doble, desarrollados por Hoover *et al.* (1976), en dos periodos experimentales consecutivos de 8 días cada uno (5 días de adaptación y 3 días de muestreo). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño factorial 2x2, donde el tipo de ración (alta en forraje = 60:40 vs alta en concentrado = 10:90, forraje:concentrado) y la adición (5mg/d) de una mezcla de aceites esenciales (Control, CTR vs Aceites Esenciales, AE) fueron los efectos principales. La mezcla de aceites esencias, Crina® para rumiantes, es un producto comercial patentado por AKZO NOBEL S.A. Sus principales componentes son: timol, limonene, guayacol y resourcine. La ración con un nivel alto de forraje contenía (% MS) un 60.3% de heno de alfalfa, 17.2% de harina de maíz, 12.2% de harina de cebada, 9.7% de harina de soja, 0.34 % de sal, 0.21% de fosfato de sodio y 0.05% de una mezcla de vitaminas y minerales. La ración con un nivel alto en concentrado contenía (% MS) un 35.9% de harina de cebada, 34.4% de harina de maíz, 17.9% de harina de soja, 10.1% de paja, 1% carbonato calcio, 0.4 sal y 0.3% una mezcla de vitaminas y minerales. La ración alta en forraje cumplía las recomendaciones del NRC (1989) para una vaca produciendo 30kg de leche/día con un 3.5% en grasa y 3.3% de proteína, y la ración alta en concentrado cumplía las recomendaciones del NRC (1996) para una ternera de engorde (180-620 kg) con una ganancia diaria de peso de 0.8 kg/d. Se suministraron 95 g/d de MS a cada fermentador en tres tomas diarias iguales a intervalos de 8 horas (0800; 1600; 2400).

Las condiciones de fermentación se mantuvieron constantes: Tª 39ºC; pH 6,4; y ritmo de paso de la fracción líquida y sólida a 10 y 5%/h, respectivamente.

El primer día de cada periodo, los fermentadores se inocularon con líquido ruminal de una vaca canulada, alimentada con una ración 60:40 forraje:concentrado. Durante los días de muestreo, los efluyentes de 24 horas se mantuvieron a 4°C para detener el crecimiento microbiano. El efluyente líquido y sólido de los tres días de muestreo se mezcló, homogeinizó y liofilizó para su posterior análisis (MS, cenizas, FND, FAD y bases púricas). Se tomaron submuestras sin liofilizar para el análisis de N total, N amoniacal y ácidos grasos volátiles (AGV). Las bacterias se obtuvieron del contenido total del fermentador el último día del experimento por centrifugación diferencial. Las bacterias liofilizadas se analizaron para MS, cenizas, nitrógeno y bases púricas.

El diseño experimental fue en bloques al azar con arreglo factorial 2x2 de los tratamientos. Los efectos principales y sus interacciones se analizaron utilizando el procedimiento GLM del SAS (1985) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS.

RESULTADOS

Los resultados se presentan según los efectos principales, ya que no se encontraron interacciones significativas entre el tipo de ración y la adición de la mezcla de aceites esenciales.

La ración alta en forraje contenía 18.0% de PB, 30.2% de FND y 21.1% de FAD, y la ración alta en concentrado 15.3% de PB, 20.2% de FND y 9.4% de FAD.

La digestibilidad aparente y verdadera de la MS (42.6% y 57.2%, respectivamente) y la digestibilidad de la FND (40.6%), no se vieron afectadas ni por el tipo de ración ni por la adición de aceites esenciales.

En la ración con un nivel elevado de concentrado se observó un aumento en la concentración de AGV totales y en la proporción de butírico, y una disminución en la proporción de acético y en la relación acético:propiónico en comparación con la ración alta en forraje (Tabla 1). La concentración de N amoniacal y el flujo de N total y amoniacal fueron mayores en la ración con un elevado contenido en forraje (Tabla 2), debido al mayor contenido de proteína en la ración alta en forraje vs la ración alta en concentrado (18% vs 15,3%). Estos parámetros de fermentación fueron los esperados para estos dos tipos de raciones.

Tabla 1: Efecto de los aceites esenciales y el tipo de ración sobre el perfil de AGV.

	Tratamientos				
	Ración		AE		
	C	F	CTR	AE+	EE
AGV totales, mM	128,1 [a]	110,9 [b]	116,2 [b]	122,8 [a]	1,67
Ramificados, mM	2,40	1,78	2,01	2,18	0,31
AGV, mol/100mol					
Acetato	50,3 [b]	61,0 [a]	53,8	57,6	1,97
Propionato	26,6	20,5	24,1	22,9	1,45
Butirato	18,5 [a]	13,9 [b]	17,4	15,0	1,19
Iso-Butirato	0,65	0,60	0,61	0,64	0,06
Valerato	2,71	3,02	2,99	2,74	0,18
Iso-Valerato	1,24	1,00	1,11	1,13	0,18
Acetato:Propionato	1,98 [b]	2,98 [a]	2,36	2,60	0,17

[a,b] Medias con diferencias significativas (P<0,05)

La adición de aceites esenciales aumentó un 6% los AGV totales, sin modificar el perfil de AGV individuales (Tabla 1). La adición de aceites esenciales no afectó a ninguno de los parámetros del metabolismo nitrogenado (Tabla 2). Este resultado contrasta con la disminución de amoniaco observada por McIntosh *et al.* (2000) que se atribuyó a la inhibición de la desaminación. La ausencia de efectos sobre el metabolismo nitrogenado podría atribuirse a una dosis inadecuada en las condiciones in vitro, o a que su efecto está mediado a través de los protozoos. La disminución de la concentración de protozoos en el cultivo continuo (Hoover *et al.*, 1976) puede haber interferido en la manifestación de los efectos.

Tabla 2: Efecto de los aceites esenciales y el tipo de ración sobre el metabolismo N.

	Tratamientos				
	Ración		AE		
	C	F	CTR	AE+	EE
$N\text{-}NH_3$, mg/100 mL	3,01 ^{b}	8,64 ^{a}	5,44	6,21	0,47
Flujo N, g/d					
Total	3,26 ^{b}	3,57 ^{a}	3,43	3,41	0,03
Amoniacal	0,10 ^{b}	0,27 ^{a}	0,17	0,20	0,01
No Amoniacal	3,17	3,30	3,26	3,21	0,03
Bacteriano	1,53	1,71	1,56	1,68	0,09
Dietario	1,64	1,60	1,70	1,53	0,11
Degradación PB,%	31,0	42,6	33,5	40,1	4,38
EMPS[1]	25,3	29,8	26,8	28,2	1,21

^{a,b} Medias con diferencias significativas ($P<0,05$)

[1]EMPS:Eficacia de síntesis de proteína microbiana (g N bacteriano/Kg materia orgánica verdadera)

CONCLUSIONES

La adición de una mezcla de aceites esenciales a raciones con contenido alto de forraje o de concentrado incrementó la concentración de AGV totales sin modificar significativamente otros parámetros de la fermentación ruminal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FEDER 2FD97-2262

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEMA. 1997. Contaminación atmosférica en Europa (www.eea.eu.int)
Coll, D. 1995. Zootecnía-Bases de Producción Animal. Tomo IV: 243-300.
Evans, J. D. y S. A. Martin. 2000. Curr. Microbiol. 41:336-340.
Hoover, W. H., B. A. Crooker y C. J. Sniffen.1976. J. Anim. Sci. 43:528-534.
Kohn, R. A., Z. Dou, J. D. Ferguson y R. C. Boston. 1997. J. Environmental Management. 50:417-428
Korevvar, H. 1992. Livest. Prod. Sci. 38:17-27.
McIntosh, F. M., C. J. Newbold, R. Losa, P. Williams y R. J. Wallace. 2000. Reprod. Nutr. Dev 40(2), 221-222.
NRC. 1989. National Academy Press. Washington, D. C.
NRC. 1996. National Academy Press. Washington, D. C.
Statistical Analysis System. 1988. SAS Institute, Cary, NC.
Tamminga, S. 1992. J. Dairy Sci. 75:345-357.
Van Bruchem, J., H. Schiere y H. van Keulen. 1999. Livest. Prod. Sci. 61:145-153.

ESTUDIO DEL EFECTO DE DOSIS CRECIENTES DE UNA MEZCLA DE ACEITES ESENCIALES SOBRE EL METABOLISMO NITROGENADO Y EL PERFIL DE FERMENTACIÓN EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTINUO

L. Castillejos[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y R. Losa[2]
[1]Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra.
[2]AKZONOBEL/CRINA SA, 15 Chemin de la Combe, 1196 Gland, Switzerland

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales son componentes secundarios de plantas con propiedades antimicrobianas (Sivropoulou *et al.*, 1996). Esta actividad antimicrobiana ha sido estudiada por la industria alimentaria con el objetivo de utilizar aceites esenciales como aditivos alimentarios (Aureli *et al.*, 1992; Ismaiel y Pierson, 1996).

Actualmente se les atribuye una acción antimicrobiana sobre la flora ruminal implicada en el metabolismo proteico, provocando una disminución de la degradación de la proteína (McIntosh *et al.*, 2000). Algunos antibióticos ionóforos actúan sobre un grupo específico de bacterias HAP (hiper-productoras de amoníaco) inhibiendo la desaminación de los aminoácidos (Chen y Russell, 1990; Attwood *et al.*, 1998). Los aceites esenciales inhiben la desaminación provocando una disminución en la producción de amoníaco, tal vez por la inhibición de las bacterias HAP (Newbold *et al.*, 1999; McIntosh *et al.*, 2000). Por otro lado, Evans y Martin (2000) también sugieren que los aceites esenciales pueden modificar el perfil de fermentación del metabolismo ruminal.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de diferentes dosis de una mezcla de aceites esenciales sobre el metabolismo nitrogenado y el perfil de fermentación en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando 8 fermentadores (1320 ml) de doble flujo continuo, desarrollados por Hoover *et al.* (1976), en dos periodos experimentales consecutivos de 9 días cada uno (6 días de adaptación y 3 días de muestreo). La dieta contenía (% MS) un 60.3% de heno de alfalfa, 17.2% de harina de maíz, 12.2% de harina de cebada, 9.7% de harina de soja, 0.34 % de sal, 0.21% de fosfato de sodio y 0.05% de una mezcla de vitaminas y minerales, y cumplía las recomendaciones del NRC (1989) para una vaca produciendo 30kg de leche/día con un 3.5% en grasa y 3.3% de proteína. Los fermentadores fueron dosificados con 95 g/d de MS suministrados en tres tomas diarias iguales a intervalos de 8 horas (0800; 1600; 2400). Los tratamientos fueron: Control (sin aceites esenciales); D1 (16mg/d); D10 (160mg/d) y D100 (1,6g/d). La mezcla de aceites esenciales, Crina® para rumiantes, es un producto comercial patentado por AKZO NOBEL S.A. Sus principales componentes son: timol, limonene, guayacol y resourcine.

Las condiciones de fermentación se mantuvieron constantes: Tª 39ºC; pH 6,4; y ritmo de paso de la fracción líquida y sólida a 10 y 5%/h, respectivamente.

El primer día de cada periodo, los fermentadores se inocularon con líquido ruminal de una vaca canulada alimentada con una ración 60:40 forraje:concentrado.

Durante los días de adaptación se recogieron muestras de líquido ruminal filtrado del fermentador dos horas después de la alimentación de la mañana (10:00), para determinar la concentración de N amoniacal y ácidos grasos volátiles (AGV). Durante los tres últimos días de muestreo se continuó recogiendo líquido ruminal filtrado de cada fermentador dos horas después de la alimentación de la mañana para determinar la concentración de AGV. Para analizar la evolución del metabolismo nitrogenado, se recogieron muestras de líquido ruminal filtrado a las 0, 2, 4 y 6 horas después de la alimentación de la mañana, para determinar el N soluble en ácido tricloroacético, el N soluble en ácido túngstico, y el N amoniacal. Estas fracciones de nitrógeno se utilizaron para calcular la concentración de N peptídico, N aminoacídico y N amoniacal.

Los resultados se analizaron utilizando el procedimiento PROC MIXED del SAS (1996) para medidas repetidas (Littell *et al.*, 1998) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS. El periodo se considero como efecto bloque. Los efectos principales del modelo fueron el tratamiento y el día, y su interacción, durante los días de adaptación para la concentración de N amoniacal y AGV. Para las fracciones nitrogenadas durante los días de muestreo, los efectos principales fueron el tratamiento y la hora, y su interacción. Se utilizó la estructura de covarianza que obtuvo el mayor criterio Schwarz's Bayesian en valor absoluto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración total de AGV aumentó un 7% en el tratamiento D1 vs Control (P=0.06). La proporción de acetato aumentó 5 unidades de porcentaje (P=0.06), la proporción de propionato y valerato disminuyó (P<0.05), y la proporción de isovalerato, la concentración de AGV ramificados y la relación acetato:propionato aumentó (P<0.05) en D1 respecto al Control (Tabla 1). El aumento en la concentración de AGV totales coincide con los resultados de experimentos anteriores (Castillejos *et al.*, 2003), y el perfil de AGV individuales se modificó en la misma dirección.

Tabla 1. Efecto de la dosis de aceites esenciales sobre el perfil de AGV.

	Tratamientos				
	Control	D1	D10	D100	EE
AGV Totales, mM	120,4 ^{y}	129,1 ^{x}	125,7	123,5	4,51
Ramificados, mM	3,10 ^{b}	4,90 ^{a}	5,95 ^{a}	4,71 ^{a}	0,78
AGV, mol/100mol					
Acetato	58,0 ^{y}	63,3 ^{x}	60,2	59,1	2,69
Propionato	20,6 ^{a}	16,9 ^{c}	17,5 ^{bc}	19,2 ^{ab}	1,07
Butirato	14,6	12,8	13,9	14,1	1,74
Valerato	4,22 ^{a}	3,25 ^{b}	3,71 ^{ab}	3,81 ^{ab}	0,45
Isobutirato	0,77	0,75	0,80	0,78	0,08
Isovalerato	1,77 ^{b}	3,04 $^{a\,y}$	3,92 $^{a\,x}$	3,01 $^{a\,y}$	0,51
Acetato:Propionato	2,86 $^{b\,y}$	3,75 $^{a\,x}$	3,51 $^{ab\,x}$	3,11 $^{ab\,y}$	0,32

$^{a, b, c}$ Medias con diferencias significativas (P<0,05)
$^{x, y}$ Medias con diferencias significativas (P<0,10)

En la Tabla 2 se muestran las medias de N peptídico, N aminoacídico y N amoniacal de las 0, 2, 4 y 6 horas postalimentación. La concentración media de N

peptídico del tratamiento D1 fue un 20% menor que la del Control (P<0.05). Esto sugiere que los aceites esenciales disminuyeron la degradación de la proteína, como indican estudios anteriores realizados con la misma mezcla de aceites esenciales (Molero *et al.*, 2003; McIntoch *et al.*, 2000), o que aumentaron la degradación de los péptidos, aunque Newbold *et al.* (1999) demostraron que estos aceites esenciales no estimulaban la peptidolisis. En consecuencia, parece razonable sugerir que los aceites esenciales redujeron la degradación de la proteína.

Los aceites esenciales no afectaron ni a la concentración de N aminoacídico ni a la concentración de N amoniacal. En un trabajo previo con las mismas condiciones experimentales la concentración de N amoniacal tampoco se modificó con la adición de aceites esenciales (Castillejos *et al.* 2003). Este resultado contrasta con los obtenidos por Newbold *et al.* (1999) que observaron una disminución del N amoniacal en el líquido ruminal de animales suplementados con aceites esenciales.

Tabla 2. Efecto de la dosis de los aceites esenciales sobre la concentración media de N peptídico, amoniacídico y amoniacal.

	Tratamientos				
	Control	D1	D10	D100	EE
Fracciones N, mg/100ml					
N Peptídico	5,98 [a]	4,88 [b]	5,58 [ab]	5,57 [ab]	0,50
N Aminoacídico	4,90	4,73	4,98	4,59	0,45
N Amoniacal	10,6	12,2	12,7	10,5	1,5

[a,b] Medias con diferencias significativas (P<0,05)

CONCLUSIONES

La administración de 16mg/d de la mezcla de aceites esenciales a cultivos continuos de líquido ruminal aumentó la concentración de AGV totales y modificó el perfil de fermentación de los ácidos grasos volátiles.

Los aceites esenciales parecen disminuir la degradación de la proteína sin afectar a la peptidolisis ni a la desaminación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FEDER 2FD97-2262

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Attwood, G. T., A. V. Klieve, D. Ouwerkerk y B. K. C. Patel. 1998. Appl. Environ. Microbiol. 64:1796-1804.
- Aureli, P., A. Costantini y S. Zolea. 1992. J. Food Prot. 55:344-348
- Castillejos, L., S. Calsamiglia, A. Ferret y R. Losa. 2003. ITEA (en prensa).
- Chen, G. y J. B. Russell. 1990. Appl. Environ. Microbiol. 56: 2186-2192.
- Evans, J. D. y S. A. Martin. 2000. Curr. Microbiol. 41:336-340.
- Ismaiel, A. y M. D. Pierson. 1996. J. Food Sci. 55:1676-1678.
- Littell, R. C., P. R. Henry y C. B. Ammerman. 1996. SAS system for mixed models. SAS Institute inc., Cary, NC.
- McIntosh F. M., C. J. Newbold, R. Losa, P. Williams y R. J. Wallace. 2000. Reprod. Nutr. Dev. 40 (2), 221-222.
- Molero R., M. Ibars, R. Losa, S. Calsamiglia y A. Ferret. 2003. Anim. Feed Sci.Technol (en revisión).
- Newbold, C. J., F. M. McIntosh, R. J. Wallace, P. Williams y J. D. Sutton. 1999. VIIIth International Symposium on Protein Metabolism and Nutrition, Abeerdeen.
- NRC. 1989. National Academy Press. Washington, D. C.
- Sivropoulou, A. , S. Kokkini, T. Lanaras y M. Arsenakis.1996. J. Agric. Food Chem. 44:1202-1205.

EFECTO DEL CINAMALDEHÍDO Y EL EXTRACTO DE AJO SOBRE LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNA Y EL PERFIL DE FERMENTACIÓN EN CULTIVOS CONTINUOS

M. Busquet[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y C. Kamel[2]
[1]Dept. de Ciència Animal y dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España
[2]Institute for Plant Biotechnology and Agriculture University of Leeds, UK.

INTRODUCCIÓN

Estudios in vitro (fermentación ruminal de 24 h) realizados en nuestro laboratorio con cinamaldehído (componente principal del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*) y extracto de ajo (*Allium sativa*) demuestran la capacidad de estos productos de reducir la concentración de N amoniacal y modificar el perfil de ácidos grasos volátiles mejorando la eficiencia de utilización de los nutrientes (Busquet, Calsamiglia, Ferret, datos no publicados). Sin embargo, Cardozo *et al.*, (2001) demostraron que el perfil de fermentación podía cambiar con el tiempo (adaptación) y sugirieron que los estudios a corto plazo se deben interpretar con precaución. El uso de un sistema in vitro de doble flujo continuo permite estudiar el efecto de estos extractos en un sistema más integrado y durante períodos de fermentación prolongados.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del cinamaldehído y extracto de ajo sobre el perfil de fermentación ruminal en un sistema in vitro de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de flujo doble continuo desarrollado por Hoover *et al.* (1976) en tres períodos consecutivos de 10 días (7 días de adaptación y 3 días de muestreo) en los que se inoculó líquido ruminal procedente de terneras canuladas, alimentadas con una dieta 60:40 forraje:concentrado. Durante los 10 días de cada período, se suministraron a cada fermentador 95 g/día de MS de una dieta 50:50 forraje:concentrado, repartidos en tres tomas al día. La temperatura (38.5ºC), el pH (6.4±0.59) y los ritmos de paso de la fracción líquida (10%/h) y sólida (5%/h) se mantuvieron constantes y fueron monitorizados mediante un PC y un PLC (Field Point, National Instruments, USA) y el programa informático LabView (LabView, USA).

Los tratamientos fueron: 2 fermentadores sin aditivo o control (CTR) y 1 fermentador para cada uno de los tratamientos con: 4 mg/d de monensina (MON); 40 mg/d de monensina (MONx10); 100 mg/d de cinamaldehído (CIN); 1000 mg/d de cinamaldehído (CINx10); 100 mg/d de extracto de ajo (GAR) y 1000 mg/d de extracto de ajo (GARx10). Los tratamientos fueron suministrados por AXISS France SAS (AXISS FRANCE SAS, Archamps, France). Los tratamientos se dosificaron a cada fermentador un minuto antes del suministro de cada toma de comida.

Durante los días de adaptación, a las 2 h posteriores de la toma de comida de la mañana, se recogieron muestras de líquido filtrado de cada fermentador para determinar la concentración del N soluble en ácido túngstico (N-TA, Winter *et al.* 1964), del N soluble en ácido tricloroacético (N-TCA, Winter et al. 1964), de N amoniacal (Chaney y Marbach, 1962) y de los ácidos grasos volátiles (AGV, Jouany,

1982). Durante los tres días de muestreo, se recogieron 4 ml de líquido filtrado de cada fermentador para la deteminación de AGV a las 2 h post-alimentación, y a las 0, 2, 4 y 6 h, para la determinación del N-TA, N-TCA y del N amoniacal. Los resultados fueron utilizados para el cálculo de la concentración de N peptídico, aminoacídico (AA) y amoniacal.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED, para medidas repetidas, del paquete estadístico SAS (SAS, 1996). Se determinó el efecto de los tratamientos y los días (para las fracciones nitrogenadas y AGV, en adaptación), o horas (para las fracciones nitrogenadas en los días 8, 9 y 10), y la interacción del tratamiento con los días o las horas. Se consideró el período como efecto bloque.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se presentan en dos apartados diferentes: 1) Evolución de las concentraciones de las fracciones nitrogenadas y AGV durante los días de adaptación; y 2) La concentración de AGV y las fracciones N en los días de muestreo.

Efecto de los aditivos durante el período de adaptación

La evolución de las fracciones nitrogenadas y AGV fue similar en todos los tratamientos, por lo que no se observó evidencia de la existencia de ningún proceso de adaptación de los tratamientos en ninguno de los parámetros estudiados.

Efecto de los aditivos después del período de adaptación

La producción de AGV totales (mM) fue mayor en MONx10 (128.7) respecto al CTR (119.0). La proporción molar (mol/100 mol) de acetato fue menor en MONx10 (46.1), CIN (58.6), GAR (59.6) y GARx10 (48.3) respecto al CTR (63.1), y la proporción molar (mol/100 mol) de propionato fue mayor en MONx10 (45.3), CIN (23.6) y GARx10 (27.1) respecto al CTR (19.8). La proporción molar (mol/100 mol) de butirato fue menor en MONx10 (4.1) y fue mayor en GARx10 (18.3) respecto al CTR (10.3). Estos cambios resultaron en una menor relación (acetato + butirato):propionato en MONx10 (1.11), CIN (2.99), GAR (3.14) y GARx10 (2.54) respecto al CTR (3.75). La proporción molar (mol/100 mol) de AGV ramificados fue menor en MONx10 (1.16), CIN (2.12) y GARx10 (1.63) respecto al CTR (2.56)

Tabla 1. Efecto de la monensina, el cinamaldehído y el extracto de ajo sobre las concentraciones de los ácidos grasos volátiles.

	Tratamientos							
	CTR	MON	MON 10	CIN	CIN 10	GAR	GAR 10	EE[1]
AGV totales, mM	119.0^{b}	120.7^{ab}	128.7^{a}	119.9^{ab}	116.6^{b}	118.4^{b}	119.8^{ab}	4.52
Proporción molar, %								
Acetato	63.1^{a}	63.0^{ab}	46.1^{d}	58.6^{c}	60.3^{abc}	59.6^{bc}	48.3^{d}	1.56
Propionato	19.8^{d}	21.8^{cd}	45.3^{a}	23.6^{bc}	20.9^{cd}	22.9^{cd}	27.1^{b}	1.61
Butirato	10.3^{bc}	8.5^{c}	4.1^{d}	11.4^{bc}	12.4^{b}	10.4^{bc}	18.3^{a}	1.12
Ramificados	2.56^{a}	2.32^{ab}	1.16^{d}	2.12^{b}	2.31^{ab}	2.46^{ab}	1.63^{c}	0.19
$^{2}C_2+C_4 : C_3$	3.75^{a}	3.28^{ab}	1.11^{d}	2.99^{bc}	3.50^{ab}	3.14^{b}	2.54^{c}	0.21

[1] EE = error estándar de la media.

[2] relación (acetato + butírico):propionato

[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

La mayor proporción molar de propionato observada en CIN y GARx10 sugiere una mejora en la eficiencia de utilización de la energía, parecida a la observada en MONx10, ya que existe una relación inversa entre la producción de propionato y la formación de metano (Van Nevel & Demeyer, 1988). Sin embargo, las diferencias en la producción de butirato entre MONx10 y GARx10 sugieren que el mecanismo de acción involucrado es probablemente distinto.

No se encontraron diferencias entre tratamientos en la concentración media de N peptídico a lo largo de las 8 h del ciclo de alimentación. Sin embargo, la concentración media de N AA a lo largo de las 8 h del ciclo de alimentación fue mayor en MONx10 (4.4) y GARx10 (4.6) respecto al CTR (1.9). Este aumento fue del 55 y 60% para MONx10 y GARx10, respectivamente. Durante todo el ciclo de 8 h post-alimentación, la concentración media de N amoníacal fue menor en MON-10 (13.0) respecto al CTR (19.2), con una disminución del 32%. La acumulación de N AA, la disminución de la concentración de N amoniacal y la disminución en la proporción de AGV ramificados sugiere una inhibición de la desaminación en MONx10 (Van Nevel & Demeyer, 1988). En GARx10 la acumulación de AA y la disminución numérica de la concentración de N amoniacal, sugiere también una posible inhibición de la desaminación.

Tabla 2. Efecto de los aditivos sobre las concentraciones medias (ciclo de 8h post-alimentación) de las fracciones nitrogenadas (mg/100ml).

	Tratamientos							
	CTR	MON	MON10	CIN	CIN10	GAR	GAR10	EE[1]
N-Peptídico	6.8	5.7	5.4	6.4	6.5	7.5	5.5	0.9
N-AA	1.9^{c}	2.0^{c}	4.4^{ab}	2.5^{bc}	2.8^{abc}	3.4^{abc}	4.6^{a}	0.8
N-Amoniacal	19.2^{a}	17.7^{ab}	13.0^{b}	16.0^{ab}	17.0^{ab}	17.1^{ab}	17.0^{ab}	1.8

[1]EE = Error estándar de la media.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

CONCLUSIONES

El cinamaldehído y el extracto de ajo modificaron las proporciones de acetato y propionato de forma similar a la monensina, aunque se desconoce el mecanismo de acción utilizado. La monensina inhibió el proceso de desaminación, mejorando la eficacia de utilización del N alimentario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. y Kamel, C., 2001. J. Dairy Sci. 84(Suppl. 1):326 (Abstr.).
Chaney A. L., y Marbach E. P., 1962. Clin. Chem. 8:130-132.
Hoover, W.H., Crooker, B.A. y Sniffen, C. J., 1976. J. Anim. Sci., 43: 528-534.
Jouany J. P., 1982. Sci. Aliments 2:131-144.
Statistical Analysis System. 1996, SAS Institute, Cary, NC:
Van Nevel C. J. y Demeyer D. I. , 1988. In : Hobson P.N. (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem, Elsevier, Amsterdam, pp. 387-443.
Winter, K. A., Johnson, R. R. y Dehority, B. A., 1964. J. Anim. Sci. 97:793-797.

EFECTO DE LOS EXTRACTOS NATURALES SOBRE LA DEGRADACIÓN DE PROTEÍNAS Y EL PERFIL DE FERMENTACIÓN EN CULTIVOS CONTINUOS

M. Busquet[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y C. Kamel[2]
[1]Dept. de Ciència Animal y dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España
[2]Institute for Plant Biotechnology and Agriculture University of Leeds, UK.

INTRODUCCIÓN

La manipulación del ecosistema ruminal mediante aditivos alimentarios ha supuesto una mejora en la eficiencia de utilización de los alimentos por parte del animal. El uso de muchos de estos aditivos, especialmente los antibióticos ionóforos, se están prohibiendo en la UE por el riesgo a aparición de resistencias en bacterias. La retirada del mercado de estos aditivos ha llevado a la necesidad de buscar productos naturales alternativos que, mejorando la producción animal, no supongan ningún riesgo para la salud del consumidor.

Los extractos de plantas, como los aceites esenciales, han sido utilizados durante siglos por sus propiedades antisépticas (Cowan, 1999). Estudios con timol, yuca y antraquinona, entre otros, han mostrado su eficacia en la modificación del fermentación ruminal (Evans y Martin, 2000; Hristov *et al.*, 1999; Garcia-Lopez *et al.*,1996), aunque la información disponible sobre los efectos de muchos de estos extractos sobre la fermentación ruminal es limitada.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de 6 extractos de plantas diferentes sobre la fermentación ruminal en un sistema in vitro de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de flujo doble continuo desarrollado por Hoover et al. (1976) en dos períodos consecutivos de 9 días (7 días de adaptación y 2 días de muestreo) en los que se inoculó líquido ruminal procedente de una vaca canulada alimentada con una dieta 60:40 forraje:concentrado. Durante los 9 días de cada período, se suministraron a cada fermentador 95 g/día de MS de una dieta 60:40 forraje:concentrado, repartido en tres tomas al día. La temperatura (38.5ºC), el pH (6.4±0.59) y los ritmos de paso de las fracciones líquida (10%/h) y sólida (5%/h) se mantuvieron constantes.

Los tratamientos fueron: sin aditivo o control negativo (CTR), antibiótico ionóforo o control positivo, monensina (MON), extracto de *Trigonella foenumgraecum* (FEN), y los aceites esenciales de: *Juniperus oxycedrus* (CAD), *Melaleuca alternifolia* (TEA), *Anethum graveolens* (DIL), *Zingiber officinale* (GIN) y *Syzygium aromaticum* (CLO). Los extractos fueron suministrados por AXISS France SAS (AXISS FRANCE SAS, Archamps, France). Las dosis utilizadas fueron 1.75 mg/d, en el caso de la MON, y de 7.5 mg/d (x 75 la dosis comercial) para los extractos. Los tratamientos se dosificaron a cada fermentador justo un minuto antes del suministro de la comida.

Durante los días de adaptación, se recogieron, a las 2 h posteriores de la toma de comida de la mañana, 8 ml de líquido filtrado de cada fermentador para determinar la concentración de N amoniacal (Chaney y Marbach, 1962) y de ácidos grasos volátiles (AGV, Jouany, 1982). En los dos días de muestreo se recogieronb 4ml de líquido para la determinación de AGV a las 2 h post-alimentación de la mañana, y a las 0, 2, 4, 6 y 8 h para la determinación del N soluble en ácido tunstico (N-TA, Winter *et al.* 1964), del N soluble en ácido tricloroacético (TCA-N, Winter *et al.*

1964), y del N amoniacal. Los resultados fueron utilizados para el cálculo de la concentración de N peptídico, aminoacídico (AA) y amoniacal.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED, para medidas repetidas, del paquete estadístico SAS (SAS, 1996). Se determinó el efecto de los tratamientos y los días (para AGV y N amoniacal, en adaptación), o horas (para las fracciones nitrogenadas, en los días 8 y 9) de muestreo, y la interacción del tratamiento con los días o las horas. Se consideró el período como efecto bloque.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

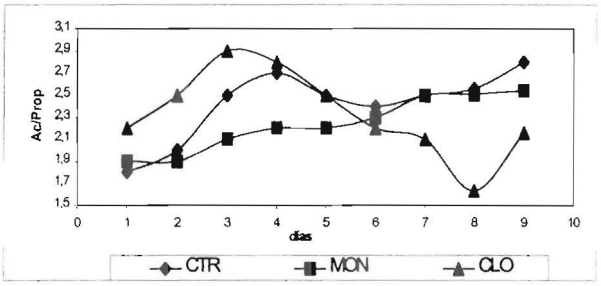
Los resultados se presentan en dos apartados diferentes: 1) Evolución de las concentraciones de N amoniacal y AGV durante los días de adaptación; y 2) Efecto de los extractos en la concentración de AGV y las fracciones nitrogenadas en los días de muestreo.

Efecto de los aditivos durante el período de adaptación

Durante los días de adaptación no se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de AGV totales. Durante los días 3 a 5, la MON resultó en una disminución en la relación acetato:propionato respecto al CTR (Figura 1). Este efecto desapareció a partir del día 6 de fermentación, lo que sugiere que, a la dosis utilizada de MON, la flora microbiana se adaptó en 5 días. A partir del día 6 de fermentación, la relación acetato:propionato en CLO disminuyó respecto al CTR (Figura 1).

No se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de N amoniacal (mg/100ml) durante los días de adaptación.

Figura 1. Efecto del CLO y la MON sobre la relación acetato:propionato respecto al control.



Efecto de los aditivos después del período de adaptación

No se observaron efectos de los tratamientos sobre la concentración de AGV totales. El CLO aumentó la proporción molar (mol/100mol) de propionato, y disminuyó las proporciones molares de acetato y AGV ramificados, y la relación acetato:propionato respecto al CTR (Tabla 1). El CAD también disminuyó la relación acetato:propionato respecto al CTR. La disminución observada en la relación acetato propionato sugiere una mejora en la eficiencia de utilización de los nutrientes en el rumen, ya que existe una relación inversa entre la producción de propionato y la formación de metano (Van Nevel *et al.*, 1988).

Tabla 1. Efecto de los aditivos sobre las concentraciones de los ácidos grasos volátiles.

	Tratamientos								
	CTR	MON	FEN	CAD	TEA	DIL	GIN	CLO	EE[1]
AGV totales, mM	114.1	114.1	112.9	113.1	107.1	108.4	108.0	111.3	4.92
Proporción molar, %									
Acetato	61.9^{ab}	61.1^{ab}	61.7^{ab}	60.0^{bc}	61.4^{ab}	63.6^{a}	60.5^{abc}	57.5^{c}	1.61
Propionato	23.2^{b}	24.2^{ab}	23.2^{b}	26.0^{ab}	23.7^{b}	22.4^{b}	24.2^{ab}	28.0^{a}	1.93
Butirato	9.6	9.3	9.1	8.9	9.2	8.8	10.0	9.7	1.12
Ramificados	2.0^{a}	1.9^{ab}	2.4^{a}	1.5^{ab}	1.9^{ab}	1.7^{ab}	1.7^{ab}	1.2^{b}	0.35
Acetato:propionato	2.7^{a}	2.5^{ab}	2.6^{ab}	2.3^{b}	2.6^{ab}	2.8^{a}	2.5^{ab}	1.9^{c}	0.17

[1] EE = error estándar de la media.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

El CLO resultó en un aumento del 80% en la concentración media de N peptídico a lo largo de las 8 h del ciclo de alimentación, y en una disminución numérica en la concentración media de N AA respecto al CTR (Tabla 2). No se observaron diferencias en la concentración media de N amoniacal. Estos resultados sugieren que CLO inhibió el proceso de peptidolisis. La inhibición de la peptidolisis podría mejorar la eficacia de síntesis de proteína microbiana y/o incrementar del flujo de peptidos al duodeno, mejorando la utilización del N alimentario (Wallace *et al.*, 1988). No se observaron efectos en los otros tratamientos sobre las concentraciones medias de las fracciones nitrogenadas.

Tabla 2. Efecto de los aditivos sobre las concentraciones de las fracciones nitrogenadas (mg/100ml).

	Tratamientos								
	CTR	MON	FEN	CAD	TEA	DIL	GIN	CLO	EE[1]
N-Peptídico	3.8^{b}	4.2^{ab}	4.5^{ab}	6.1^{ab}	4.3^{ab}	5.0^{ab}	4.8^{ab}	6.9^{a}	1.48
N-AA	5.2	5.1	5.0	5.0	4.5	4.7	4.0	2.8	1.69
N-Amoniacal	7.5	9.5	8.7	7.4	8.0	8.5	7.1	6.4	1.96

[1] EE = Error estándar de la media.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05).

CONCLUSIONES

A las dosis utilizadas (7.5 mg/d) el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* modificó el perfil de fermentación ruminal reduciendo la relación acetato:propionato e inhibiendo la peptidolisis resultando en una mejora de la eficiencia de utilización de los nutrientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chaney A. L., y Marbach E. P., 1962. Clin. Chem. 8:130-132.
Cowan, M. M., 1999. Clin. Microbiol. Rev. 12:654-582.
Evans, J. D. y Martin S. A., 2000. Curr. Microbiol., 41: 336-340.
Hoover, W.H. Crooker, B.A. y Sniffen, C. J. 1976. J. Anim. Sci., 43: 528-534.
Hristov, A. N., McAllister, B. A., Van Herk ,F.H., Cheng, K.J., Newbold, C. J. y Cheeke, P. R., 1999. J. Anim. Sci. 77: 2554-2563.
Jouany J. P., 1982. Sci. Aliments 2:131-144.
Statistical Analysis System. 1996, SAS Institute, Cary, NC:
Van Nevel C. J. y Demeyer D. I. , 1988. In : Hobson P.N. (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem, Elsevier, Amsterdam, pp. 387-443.
Wallace R. J. y Cotta M.A., 1988. In : Hobson P.N. (Ed). The Rumen Microbial Ecosystem, Elsevier, Amsterdam, pp. 217-249.
Winter, K. A., Johnson, R. R. y Dehority, B. A. 1964. J. Anim. Sci. 97:793-797.

EFECTOS DE LOS EXTRACTOS NATURALES DE PLANTAS SOBRE LA DEGRADACIÓN DE LA PROTEÍNA Y EL PERFIL DE FERMENTACIÓN EN CULTIVOS CONTINUOS

P. W. Cardozo[1], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y C. Kamel[2]
[1]Dept. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, España.
[2]Centre for Animal Science, School of Biology, University of Leeds, LS2 9JT, Leeds, Reino Unido.

INTRODUCCIÓN

Algunas plantas producen metabolitos secundarios con propiedades antibacterianas y antifúngicas (Cowan, 1999). Algunos fenoles, aceites esenciales y sarsaponinas pueden afectar a la fermentación ruminal (Kamel, 2001). Estudios con extractos de yuca (Wallace *et al.*, 1994) señalaron que la sarsaponina (compuesto secundario de la yuca) redujo la concentración de N amoniacal. Ryan *et al.* (1997) observaron que el extracto de yuca aumentó la concentración de acetato y propionato a las 24 h de incubación in vitro, pero redujo la concentración de propionato, butirato y valerato a las 48 h. Sin embargo, otros estudios señalan que las sarsaponinas no afectan a la fermentación ruminal (Wang *et al.*, 1997). Por otro lado, Evans y Martin (2000) observaron que el timol redujo la proporción molar de acetato, propionato y el pH ruminal a las 24 h de incubación in vitro. Existen otros compuestos secundarios con actividades antimicrobianas cuyos efectos sobre la fermentación ruminal no han sido evaluados. El objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos de seis extractos naturales de plantas sobre la degradación de la proteína en un sistema de cultivo de doble flujo continuo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1320 ml) de flujo doble continuo desarrollado por Hoover *et al.* (1976). Las condiciones de la temperatura (38 ºC), pH (6.4±0.05) y las tasas de dilución de las fracciones líquidas y sólidas (10 y 5 %/h, respectivamente) se mantuvieron constantes. El inóculo provenía de una vaca canulada a nivel ruminal y alimentada con una dieta 60:40 forraje:concentrado. La dieta contenía (% MS) heno de alfalfa (27%), planta entera deshidratada de maíz (20%), harina de soja (16%), harina de maíz (15%), harina de cebada (15%), paja molida (5%), y una mezcla de minerales y vitaminas (2%). Se suministraron a cada fermentador 95 g/día de MS de la misma dieta en 3 porciones iguales a intervalos de 8 h. Los tratamientos fueron: Sin extracto (**CTR**), control positivo; mezcla de todos los extractos (**MIX**), y extractos de *Allium sativa* (**GAR**; 0.7% de allicina), *Cinnamonum cassia* (**CAS**; 59% de cinnamaldehido), *Yucca schidigera* (**YUC**; 8% de sarsaponinas), *Pimpinella anisum* (**ANI**; 86% de anetol), *Origanum vulgare* (**ORE**; 64% de carvacrol y 16% de timol) y *Capsicum annuum* (**CAP**; 12% de capsaicina). El nivel de inclusión fue de 15 mg/kg MS para el MIX y 7.5 mg/kg MS para cada extracto. El experimento consistió en 4 períodos consecutivos de 10 días cada uno (8 de adaptación y 2 de muestreo). Del día 1 al 10, se recogieron muestras (2 horas después de la alimentación) para determinar la evolución de N amoniacal y AGV. En los días 9 y 10, se recogieron muestras a las 0, 2, 4, 6, y 8 horas después de la dosificación de alimento para determinar el N soluble en ácido tungstico (N-TA) y en

[1] Trabajo financiado por AXISS France SAS.

ácido tricloroacético (N-TCA); asimismo, se recogieron muestras para determinar el N amoniacal.

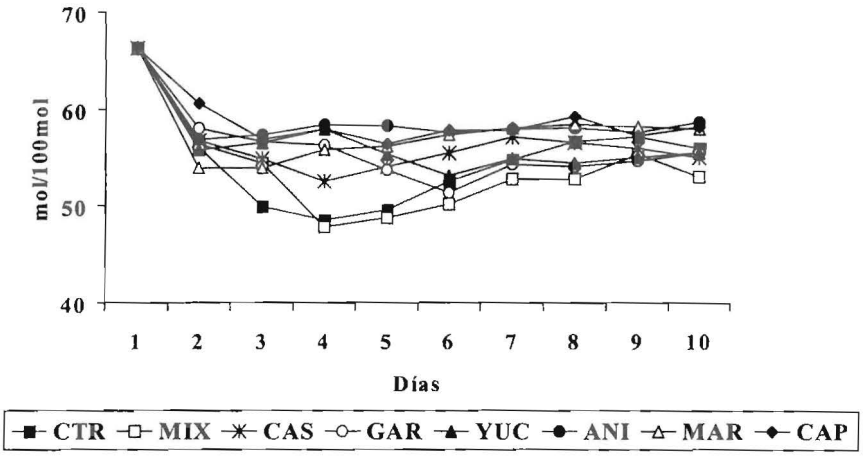
Los resultados fueron analizados utilizando el PROC MIXED para medidas repetidas (Littell *et al.*, 1998). El período fue considerado random. Las diferencias fueron declaradas a $P < 0.05$ usando la opción PDIFF del LSMEANS (SAS, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de los extractos en los días de adaptación

La proporción molar de acetato (mol/100 mol) de GAR (media de 56.9), YUC (media de 56.7), ANI (media de 57.5), ORE (media de 54.5) y CAP (media de 58.4) fue mayor durante los 4 primeros días comparados con el CTR (media de 51.5). El día 5, la proporción molar de acetato en ANI (58.2) fue mayor al CTR (49.6). Dichas diferencias desaparecieron después del sexto día de fermentación (Figura 1).

Figura 1. Efectos de los extractos naturales de plantas sobre la proporción molar de acetato durante el periodo de adaptación



Las proporciones molares (mol/100 mol) de propionato en ANI (media de los días 3 al 6; 25.9), YUC (media de los días 3 al 5; 26.6), CAP (media de los días 4 al 6; 25.5), y ORE (media de los días 5 al 6; 25.3) fueron menores que en el CTR (media de 30.7). Dichas diferencias desaparecieron a partir del día 7, probablemente por la adaptación de las poblaciones bacterianas a dichos productos. Estos resultados sugieren que los estudios de fermentación in vitro de corta duración pueden llevar a conclusiones erróneas, y tendrían que ser interpretados con más precaución.

No se observaron efectos ($P > 0.05$) de los extractos naturales sobre la concentración de N amoniacal.

Efecto de los extractos en los días de muestreo

La concentración total de AGV de todos los tratamientos fue similar al CTR (media de 105.1 mM). La proporción de cada AGV individual no fue afectada por los tratamientos, excepto la concentración de butirato (mol/100 mol) en el MIX (15.5) y la del isobutirato en el MIX (0.7), ANI (0.7) y ORE (0.8) que fueron mayores comparados con el CTR (11.3 y 0.6, respectivamente).

Los resultados de las concentraciones medias de las fracciones nitrogenadas durante las 8 horas de muestreo son presentados en la Tabla 1.

Tabla 1. Efectos de los extractos naturales de plantas sobre las fracciones nitrogenadas (media de las 8 horas)

Tratamientos	CTR	MIX	CAS	GAR	YUC	ANI	ORE	CAP
Fracciones nitrogenadas, mg/100 ml								
N peptídico	6.54	8.50*	8.22*	8.02	8.18*	7.81	6.61	6.32
N aminoacídico	7.35	6.70	5.89	8.42*	6.38	7.99*	7.29	7.56
N amoniacal	5.47	5.19	5.19	4.14*	5.08	7.23*	6.41	5.17

* Medias con asterisco son distintas al CTR ($P < 0.05$)

La acumulación de N peptídico en MIX, CAS y YUC sugieren que el ritmo de degradación de la proteína se incrementó, o que la actividad peptidolítica se inhibió. La acumulación de N aminoacídico en GAR y en ANI sugiere que la peptidolisis se incrementó, o que la actividad de deaminación se inhibió. La acumulación de N amoniacal en ANI sugiere que se estimuló la producción de N amoniacal, o que se inhibió la utilización de N amoniacal por las bacterias. La concentración baja de N amoniacal en el GAR sugiere que la actividad de deaminación se inhibió, o que se estimuló la utilización de N amoniacal para la síntesis de proteína microbiana.

CONCLUSIÓN

Los niveles de inclusión de los extractos naturales utilizados en el presente trabajo no afectaron a la concentración de AGV totales. Los extractos de YUC, ORE, ANI, GAR y CAP modificaron la concentración de acetato y propionato durante los 6 primeros días, pero sus efectos desaparecieron a partir del séptimo día, posiblemente por la adaptación de las bacterias a dichos productos. El extracto de YUC modificó la actividad peptidolítica, el GAR afectó a la deaminación, y el ANI estimulo la peptidólisis y la deaminación. La selección cuidadosa de estos aditivos pueden ayudar a manipular el ritmo de degradación de la proteína.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cowan, M. M. 1999. Clin. Microbil. Rev. 12:564.
Evans, J. D. y S. A. Martin. 2000. Curr. Microbiol. 41:336.
Hoover, W. H., Crooker, B. A., y C. J. Sniffen. 1976. J. Anim. Sci. 43:528.
Littell, R. C., P. R. Henry, y C. B. Ammerman. 1998. J. Anim. Sci.. 76:1216.
Kamel, C. 2001. Recent advances in animal nutrition. Univ. Press. UK. p. 135.
Ryan, J. P., Quinn, T., y B. L. Leek. 1997. J. Dairy Sci. 81:3222.
SAS user's guide. 1996 (versión 8.1). SAS inst. Inc. Cary. NC.
Wallace, R. J., L. Arthaud, y C. J. Newbold. 1994. Appl. Envirom. Microbiol. 60:1762.
Wang, Y., T. A. McAllister, C. J. Newbold, L. M. Rode, P. R. Cheeke, y K. Cheng. 1997. Anim. Feed Sci. Technol. 74:143.

EFECTO DE LOS ACEITES ESENCIALES DE DIFERENTES PLANTAS MEDICINALES SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*.

M. Fernández, R. García González, E. Serrano, R. Bodas, J.S. González y S. López.

Departamento de Producción Animal I. Universidad de León. 24071 LEÓN.

INTRODUCCIÓN

La obtención de productos de origen animal implica un proceso de transformación de los alimentos consumidos en los productos obtenidos que, en la mayoría de los casos, resulta ineficiente. Además, dicho proceso origina productos de desecho (tales como amoniaco o metano) que pueden llegar a ser contaminantes.

Los aditivos, utilizados frecuentemente en la alimentación animal, son sustancias que se administran en pequeñas dosis para mejorar la utilización digestiva y metabólica de los alimentos, lo que supone un incremento en las producciones y/o una mejora de la calidad de los productos obtenidos. Los aditivos han sido utilizados principalmente en la alimentación de cerdos y de aves; no obstante, existen compuestos que pueden actuar a nivel de la fermentación ruminal y que pueden tener un gran interés en la alimentación de los rumiantes (López *et al.*, 2002).

La Unión Europea ha prohibido el uso de algunos aditivos, como los antibióticos, por sus efectos indeseables sobre la salud del animal y del consumidor. En este sentido, la legislación europea tiende a ser cada vez más estricta e impone restricciones y prohibiciones cautelares para la comercialización de aditivos, especialmente los de tipo sintético. Por este motivo, resulta interesante el estudio de sustancias naturales, tales como las plantas medicinales o sus extractos o aceites esenciales, que pudieran ser utilizados como modificadores de la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

En esta prueba se utilizaron los aceites esenciales de 16 plantas diferentes: *Citrus limonum L.*; *Cupressus sempervirens*; *Eugenia caryophyllata*; *Foeniculum vulgare Mill.*; *Hyssopus officinalis L.*; *Lavandula officinalis chaix.*; *Mentha arvensis*; *Origanum mejorana L.*; *Origanum vulgari*; *Pelargonium graveolens L.*; *Pimpinella anisum L.*; *Pinus pinaster soland*; *Pinus sylvestris L.*; *Rosmarinus officinalis L.*; *Salvia sclarea*; *Thymus vulgaris L.*

Para estudiar la fermentación ruminal, como sustrato se utilizaron 500 mg de una ración constituida por un 50% de heno de alfalfa, un 30% de cebada y un 20% de heno de prado, todos ellos molidos con malla de 1 mm. Además, se añadieron 40 µl de aceite esencial de cada una de las plantas. Se incubaron 4 réplicas de cada uno de los aceites esenciales. En la incubación se incluyeron también 6 viales más, 4 de los cuales que se utilizaron como control y que contenían 500 mg del sustrato y dos blancos que contenían, únicamente, 50 ml de la mezcla del líquido ruminal y del medio de cultivo.

Los sustratos se incubaron en viales de 120 ml a los que se añadieron 50 ml de una mezcla (1:4) de líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970). El líquido ruminal se recogió de 3 ovejas fistuladas en el rumen y

alimentadas con heno de alfalfa y cebada en grano en proporción 70:30. La recogida de dicho líquido se efectuó inmediatamente antes de la administración del alimento y fue filtrado a través de 2 capas de gasa. Los viales se cerraron y se introdujeron en un incubador, donde permanecieron a 39° C durante 24 horas. Al final de la prueba, se detuvo la fermentación mediante la introducción de los viales en un baño de hielo y en cada una de ellos se midió la producción de gas y la composición del gas del espacio de cabeza mediante cromatografía de gases. Posteriormente los viales fueron abiertos, se midió el pH en el medio de incubación y se tomó una muestra para determinar las concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV). Finalmente, el contenido de cada vial se filtró utilizando crisoles provistos de placa porosa. Los residuos de incubación se secaron en estufa a 55° C durante 48 horas para estimar la desaparición de materia seca (MS) tras 24 h de incubación.

La biomasa microbiana se calculó a partir de las ecuaciones estequiométricas propuestas por Blümmel *et al.* (1997). Los valores medios de cada parámetro para cada aditivo se compararon con los del tratamiento control mediante una t de student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de cambio respecto al control, correspondientes a los diferentes parámetros de la fermentación ruminal y para cada uno de los aceites esenciales figuran en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores de los distintos parámetros de la fermentación ruminal, expresados como porcentaje de cambio respecto al control: producción total de gas, producción de metano, biomasa microbiana; desaparición de materia seca (DMS) y producción de ácidos grasos volátiles (AGV).

	Gas total (µmol/día)	Metano (µmol/día)	Biomasa (mg/día)	DMS (%)	AGV (µmol/día)
Control	3490 ± 23,1	348 ± 3,3	74,2 ± 6,64	71,8 ± 0,69	2819 ± 29,3
C. limonun	-3,72[a]	-14,51[a]	+15,54	-9,81[a]	+1,19
C. sempervirens	-8,31[a]	-22,79[a]	+57,57[a]	-12,01[a]	-5,55[a]
E. caryophyllata	-4,01[a]	-4,11[a]	+19,77	-12,01[a]	-10,41[a]
F. vulgare	-2,87[a]	-17,96[a]	+17,45	-10,45[a]	-3,61[a]
H. officinalis	+0,86	-8,71[a]	+17,29[a]	-6,69[a]	-2,42
L. officinalis chaix	+0,37	-19,66[a]	+4,21	-7,62[a]	+5,15[a]
M. arvensis	-11,17[a]	-22,93[a]	+66,75[a]	-16,80[a]	-9,78[a]
O. mejorana	+2,87[a]	-17,39[a]	-2,62	-5,19[a]	+5,00[a]
O. vulgari	-41,55[a]	-73,13[a]	+43,95[a]	-13,43[a]	-61,41[a]
P. graveolens	-10,32[a]	-23,13[a]	+33,35[a]	-12,87[a]	-8,60[a]
P. anisum	-9,46[a]	-0,09	+48,55[a]	-14,05[a]	-11,40[a]
P. *pinaster soland*	-7,28[a]	-24,80[a]	+32,59[a]	-11,65[a]	-5,07[a]
P. sylvestris	-12,55[a]	-12,30[a]	+9,49	-7,54[a]	+2,96
R. officinalis	+2,44	-8,13	+10,14	-1,48	-1,86
S. sclarea	+1,15	-7,56[a]	+2,54	-6,16[a]	-5,49[a]
T. vulgaris	-56,25[a]	-86,14[a]	+17,67[a]	-12,48[a]	-69,43[a]

[a] dentro de la misma columna, los valores difieren significativamente (P<0,05) del control.

La adición al sustrato de incubación de los aceites esenciales originó una reducción significativa ($P<0,05$), en relación al tratamiento control, de la producción diaria de metano y de los valores de desaparición de la MS, con la excepción de los aceites esenciales de *R. officinalis* y *P. anisum* en el caso del metano y de *R. officinalis* para la desaparición de MS. Este efecto sugiere la capacidad de estos aditivos para modificar la fermentación ruminal.

La modificación de la fermentación ruminal originada por los aceites esenciales de las plantas medicinales podría estar relacionada con la presencia en aquéllos de compuestos de distinta naturaleza (fundamentalmente de naturaleza fenólica), que tienen actividad antimicrobiana. De hecho, algunos autores han constatado que aceites esenciales ricos en carvacrol y/o timol poseen una elevada actividad antibacteriana y antifúngica (Karaman *et al.*, 2001). La inhibición causada por estos aditivos, al igual que sucede con algunos antibióticos ionóforos (Van Nevel y Demeyer, 1996), podría ser selectiva sobre ciertas poblaciones microbianas del rumen, puesto que, según indican los resultados de este estudio, no todos los aceites esenciales que redujeron la producción de metano y/o la desaparición de MS afectaron de forma negativa a la producción de AGV.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la capacidad de los aceites esenciales estudiados para modificar la fermentación ruminal *in vitro*, aunque a la dosis empleada algunos de ellos, además de producir efectos que *a priori* son beneficiosos, como la disminución en la producción de metano, también afectan negativamente a la digestión de la materia seca y a la producción de ácidos grasos volátiles. Por este motivo, es preciso determinar, si es posible, la dosis óptima que disminuya la producción de metano sin provocar un efecto demasiado adverso sobre la digestión de la materia seca y la producción de ácidos grasos volátiles.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto LE 29/03).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blümmel, M.; Makkar, H.P.S. and Becker, K. (1997). *In vitro gas* production: a technique revisited. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 77, 24-34.

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. (1970). *Forage Fiber Analysis* (apparatus, reagents, procedures and some applications). Agricultural Handbook No. 379, USDA, Washington DC.

Karaman, S.; Digrak, M.; Ravid, U. and Ilcim, A. (2001). Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Enthnopharmacology*, 76, 183-186.

López, S.; Bodas, R. y Fernández, M. (2002). Uso de plantas medicinales en alimentación animal. *Mundo ganadero*, 144, 44-46.

Van Nevel, C.J. and Demeyer, D.I. (1996). Control of rumen methanogenesis. *Environmental Monitoring and Assessment*, 42, 73-97.

EFECTO DE LA ADICIÓN DE FUMARATO Y ASPARTATO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE GRANOS DE CEREALES

M.J. Ranilla y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEON

INTRODUCCIÓN

Los ácidos orgánicos se utilizan frecuentemente como aditivos en la alimentación de los animales monogástricos, pero su uso en los animales rumiantes es limitado. En el rumen, los hidratos de carbono de la ración se degradan hasta convertirse en piruvato, que es metabolizado por los microorganismos ruminales para producir ácidos grasos volátiles. Algunos ácidos orgánicos (fumárico, málico, aspártico) son intermediarios metabólicos en la transformación de piruvato a propiónico. El ácido propiónico es absorbido en el rumen y en su mayor parte transportado al hígado, donde se convierte en glucosa y constituye así una fuente energética para el animal hospedador.

Algunos estudios recientes muestran que la incorporación de ácidos orgánicos en las raciones para rumiantes con un alto contenido en concentrados puede tener un efecto beneficioso sobre la fermentación, aunque la respuesta parece depender del tipo de cereal incluido en el concentrado (Carro y Ranilla, 2003). El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de aspartato y fumarato sobre la fermentación ruminal *in vitro* de dos cereales: maíz y cebada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del estudio se emplearon dos cereales: cebada y maíz, cuya composición química se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de los cereales incubados

	Materia orgánica	Proteína bruta	Fibra neutro detergente	Fibra ácido detergente
Maíz	985	89.6	119	23.2
Cebada	974	116	176	42.5

El estudio se llevó a cabo en cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales. Se incubaron 500 mg de cada cereal en botellas de 120 ml a las que se añadieron 50 ml de una mezcla de líquido ruminal y del medio de cultivo (1:4) descrito por Goering y Van Soest (1970), mantenida a 39ºC y en anaerobiosis. Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de cuatro ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de buena calidad *ad libitum* y 300 g de concentrado al día.

Se utilizaron las sales de dos ácidos orgánicos: fumarato disódico y aspartato potásico (Sigma, Madrid, España), que se añadieron en una concentración 10 mM por botella. Para cada sustrato se incubaron tres botellas: una sin ácido orgánico (control, C) y otra con cada uno de los ácidos (fumarato, F; y aspartato, A). Se

Trabajo financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (AGL2001-0130) y por la Junta de Castilla y León (LE62/03). M.J. Ranilla disfruta de un contrato de investigación del Ministerio de Ciencia y Tecnología (Programa Ramón y Cajal).

incluyeron además dos botellas sin sustrato (blancos) para cada uno de los tratamientos (C, F y A), para corregir la producción de gas procedente de los sustratos endógenos y de las sales de los ácidos orgánicos añadidos. La incubación se repitió en cuatro días diferentes para obtener cuatro réplicas por tratamiento.

Las incubaciones duraron 17 h, tras las cuales se midió la producción de gas en todas las botellas, tomando una muestra en un tubo al vacío tipo Vacutainer. Las botellas se abrieron, se midió y registró su pH y se detuvo la fermentación mediante su introducción en un baño de hielo. El contenido de cada botella se filtró a través de crisoles provistos de una placa porosa, los cuales se secaron en estufa a 100ºC y se analizó el contenido en cenizas del residuo para estimar la desaparición de la materia orgánica de los cereales. Se recogió además una muestra del filtrado para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV).

El efecto de la adición de los ácidos orgánicos sobre los distintos parámetros de fermentación ruminal de cada cereal se estudió mediante análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 2, la adición de fumarato y aspartato produjo un aumento significativo ($P<0,05$) del pH final de las incubaciones con ambos cereales con respecto al control, sin que existieran diferencias entre los dos aditivos. Es conocido que malato y fumarato estimulan la utilización de lactato por parte de *Selenomonas ruminantium* (Nisbet y Martin, 1990), previniendo el descenso del pH que se produce por el acúmulo de dicho ácido. En el presente experimento, este efecto sobre el pH podría ser atribuido a una estimulación en la captación y transformación del ácido láctico a propiónico por parte de la flora ruminal. En el caso del maíz, la producción de propiónico fue máxima ($P<0,05$) cuando se incubó con aspartato, si bien fue mayor ($P<0,05$) con fumarato que sin aditivo. El fumarato ocasionó también un aumento ($P<0,05$) de la producción de propiónico cuando se incubaron granos de cebada.

En cuanto a la producción de AGV totales y de ácido acético se refiere, la adición de fumarato produjo un aumento ($P<0,05$) con respecto al control cuando se incubó maíz, con valores aún más elevados ($P<0,05$) en presencia de aspartato. Estos resultados están en línea de los obtenidos por Callaway y Martin (1996) en incubaciones con maíz y ambos ácidos orgánicos. No hubo diferencias ($P>0,05$), sin embargo, cuando se utilizó la cebada como sustrato en la producción de AGV ni de acético.

La producción de metano se redujo ($P<0,05$) con respecto al control cuando se añadió fumarato a los botes en los que se incubó el maíz, aunque la mayor producción de metano ($P<0,05$) correspondió al tratamiento con aspartato. En el caso de la cebada, la producción de metano no se vio afectada ($P>0,05$) por la adición de los ácidos orgánicos. Se han observado resultados variables sobre la reducción en la producción de metano con diferentes cereales y ácidos orgánicos (Callaway y Martin, 1996; Carro y Ranilla, 2003), si bien se asume que este efecto sería más importante con raciones a base de forraje. Tampoco se observaron diferencias ($P>0,05$) en la desaparición de materia orgánica cuando la cebada se incubó en presencia de los aditivos, pero si aumentó ($P<0,05$) con respecto al control cuando el maíz se incubó con fumarato o aspartato.

Tabla 2. Efecto de la adición de fumarato y aspartato sobre distintos parámetros de fermentación tras la incubación *in vitro* de granos de maíz y cebada con líquido ruminal durante 17 horas (pH, producción total de ácidos grasos volátiles (AGV), de acético, propiónico y butírico, desaparición de materia orgánica (DMO) y producción de metano).

MAÍZ	C	F	A	e.e.d.[1]
pH	6.27[b]	6.39[a]	6.38[a]	0.021
AGV (µmol)	3022[c]	3517[b]	3711[a]	55.5
acético (µmol)	1600[c]	1794[b]	1856[a]	64.6
propiónico (µmol)	975[c]	1258[b]	1464[a]	68.6
butírico (µmol)	386	396	459	29.8
DMO (%)	69.0[b]	72.1[a]	72.6[a]	1.10
metano (µmol)	644[b]	597[c]	675[a]	20.8
CEBADA	C	F	A	e.e.d.
pH	6.37[b]	6.48[a]	6.46[a]	0.027
AGV (µmol)	3090	3502	3099	262.4
acético	1655	1751	1562	154.2
propiónico	940[b]	1282[a]	1111[ab]	74.0
butírico	405	392	356	33.3
DMO (%)	68.6	67.8	69.6	3.25
metano (µmol)	673	648	685	23.9

[a, b, c] dentro de cada cereal, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05)
[1]e.e.d. : error estándar de la diferencia

Los resultados obtenidos indican un efecto beneficioso de los ácidos fumárico y aspártico sobre la fermentación ruminal *in vitro* de granos de cereales, aunque la magnitud de este efecto fue mayor con el maíz que con la cebada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Callaway, T.R. and Martin, S.A. 1996. Effects of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *Journal of Animal Science*, 74, 1982-1989.

Carro, M.D. and Ranilla, M.J.2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *British Journal of Nutrition*, 89: 181-188.

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. 1970. *Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agricultural Handbook, nº 379. Agricultural Research Services, USDA. Washington DC.

Nisbet, D.J. and Martin S.A. 1990. Effect of dicarboxylic acids and Aspergillus oryzae fermentation extract on lactate uptake by the ruminal bacterium Selenomonas ruminantium. *Applied and Environmental Microbiology*, 26, 133-136.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 744-746

FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE RACIONES CON DIFERENTES PROPORCIONES DE FORRAJE Y CONCENTRADO: EFECTO DE LA ADICIÓN DE MALATO DISÓDICO

R. García Martínez, M.J. Ranilla, M.L. Tejido y M.D. Carro
Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León

INTRODUCCIÓN

La propuesta del Comité de la Unión Europea de prohibir el uso de aditivos antibióticos promotores del crecimiento en la alimentación animal a partir de enero de 2006 ha intensificado la necesidad de desarrollar alternativas válidas a estas sustancias. En el caso de los animales rumiantes se han investigado varios ácidos orgánicos como posibles alternativas, aunque la mayoría de los estudios se han centrado en las sales del ácido málico. En diferentes estudios *in vitro* (Martin y Streeter, 1995; Carro *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003) se ha observado que estas sales provocan modificaciones en la fermentación ruminal similares a las producidas por los antibióticos ionóforos, y que se traducen, principalmente, en un aumento del pH ruminal y de la producción de propionato, y en una disminución de la producción de metano. Sin embargo, es posible que la magnitud de la respuesta obtenida dependa de las características de la ración que reciben los animales (Carro y Ranilla, 2003), por lo que este estudio se planteó para estudiar el efecto del malato disódico sobre la fermentación *in vitro* de tres raciones con diferentes proporciones de forraje y concentrado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las relaciones forraje:concentrado de las raciones utilizadas fueron: 80:20 (ración **C20**), 50:50 (ración **C50**) y 20:80 (ración **C80**). El forraje se compuso de heno de alfalfa y ensilado de maíz (mezcla 50:50 en materia seca (MS)) y el concentrado estuvo formado por maíz, cebada y soja en proporciones 35:50:15, respectivamente. En la Tabla 1 figura la composición química de las tres raciones. Muestras de cada ración (500 mg de MS) se incubaron en botellas de 120 ml de volumen, a las que se añadieron 50 ml de una mezcla 1:4 (v/v) de líquido ruminal y del medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970). Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen, que recibían heno de alfalfa *ad libitum* y 300 g de concentrado administrados en dos tomas diarias. El líquido ruminal se recogió por la tarde, inmediatamente antes de la administración del concentrado, y se filtró a través de cuatro capas de gasa y una capa de nailon de 100 µm de poro antes de ser mezclado con el medio de cultivo. Las raciones se incubaron sin ningún aditivo, y añadiéndoles la cantidad necesaria de malato disódico (Sigma Chemical Co., Madrid) para obtener una concentración 8 mM de malato. Una vez llenas, las botellas se cerraron herméticamente y se incubaron a 39ºC durante 16 horas. Tras finalizar la incubación, se midió la producción de gas y se recogió una muestra del mismo para analizar su concentración en metano. A continuación, se abrieron las botellas, se determinó el pH del medio, y se tomó una muestra para analizar su concentración en ácidos grasos volátiles

Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Junta de Castilla y León (Proyecto LE63/03). M.J. Ranilla disfruta de un contrato investigador del MCYT (Programa Ramón y Cajal).

(AGV). Finalmente, se filtró el contenido de las botellas en crisoles provistos de una placa porosa para determinar la desaparición de MS y de materia orgánica. Los análisis de AGV y de metano se realizaron mediante cromatografía de gases. En total se realizaron cuatro incubaciones en días diferentes, para obtener cuatro réplicas por tratamiento. Para cada ración, el efecto de la adición de malato disódico sobre los parámetros ruminales determinados se estudió mediante un análisis de varianza y se consideraron como efectos principales el tratamiento (control *vs* malato) y el día de incubación.

Tabla 1. Composición química (g/kg MS) de las raciones incubadas *in vitro*

Ración	Materia orgánica	Proteína bruta	Fibra neutro-detergente	Fibra ácido-detergente
C20	947	135	387	236
C50	956	145	297	164
C80	966	156	208	91,3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos figuran en la Tabla 2. La adición de malato disódico produjo un aumento ($P<0,05$) del pH final con las raciones **C50** y **C80**, pero con la ración **C20** este efecto no llegó a ser significativo ($P<0,10$). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por López *et al.* (1999) y Carro y Ranilla (2003) para raciones con altas proporciones de concentrados y granos de cereales, respectivamente. Con la ración **C20** la adición de malato disódico mostró una tendencia ($P<0,10$) a aumentar la DMO, pero no se observaron efectos con las otras dos raciones. La producción de metano disminuyó significativamente ($P<0,05$) en los cultivos *in vitro* a los que se les añadió malato con las raciones **C20** y **C80**, pero no se observó un efecto significativo con la ración **C50**. La reducción en la producción de metano fue inferior al 5 %, lo que concuerda con los resultados obtenidos por otros autores (López *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003).

La producción de AGV se vio afectada en todos los casos por la adición de malato, pero existieron diferencias entre las raciones. Con la ración **C20**, el tratamiento con malato aumentó ($P<0,05$) la producción de los tres principales AGV (acetato, propionato y butirato). López *et al.* (1999) obtuvieron resultados similares al añadir malato a cultivos in vitro con una ración compuesta por un 80 % de heno de alfalfa y un 20 % de concentrado.

La adición de malato a los cultivos que recibieron la ración **C50** produjo un aumento ($P<0,05$) en la producción de acetato y propionato, pero no afectó ($P>0,05$) a la cantidad de butirato producida. De forma similar, Carro *et al.* (1999) observaron un aumento de la producción de acetato y propionato cuando se añadió malato a fermentadores semicontinuos que recibían una ración basal con una relación forraje:concentrado 50:50, sin que se observara en este caso una modificación en la producción de butirato.

En línea con los resultados observados por Carro y Ranilla (2003) en incubaciones *in vitro* de granos de cereales con líquido ruminal, la adición de malato a la ración **C80** en este experimento aumentó la producción de propionato y butirato ($P<0,05$), sin que se viera afectada ($P>0,05$) la producción de acetato.

Los resultados de este estudio, junto con los obtenidos previamente por otros autores, parecen confirmar que la respuesta a la adición de malato a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales depende del tipo de ración basal incubada.

Tabla 2. Efecto de la adición de malato disódico (8mM) sobre el pH final, la producción de metano (mmol), la desaparición de materia orgánica (DMO; %) y la producción de acetato, propionato y butirato (µmol) tras la incubación *in vitro* (16 h) con líquido ruminal de tres raciones con diferentes proporciones de forraje y concentrado

		Control	Malato	e.e.d.	Significación estadística (P=)
Ración **C20**	pH	6,34	6,41	0,055	NS†
	Metano	701	666	10,9	0,032
	DMO	48,2	50,6	0,90	NS†
	Acetato	1841	2059	70,7	0,049
	Propionato	668	890	35,9	0,008
	Butirato	447	495	8,3	0,011
Ración **C50**	pH	6,31	6,37	0,031	0,049
	Metano	754	742	9,7	NS
	DMO	56,2	58,4	1,03	NS
	Acetato	1836	2059	69,6	0,049
	Propionato	697	894	33,6	0,010
	Butirato	537	543	14,3	NS
Ración **C80**	pH	6,27	6.36	0,028	0,049
	Metano	812	773	10,8	0,038
	DMO	67,0	67,0	0,92	NS
	Acetato	1937	1870	72,7	NS
	Propionato	731	908	56,2	0,049
	Butirato	570	644	18,2	0,027

e.e.d.: error estándar de la diferencia; NS: P>0,05; NS†: P<0,10.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro MD, López S, Valdés C y Ovejero FJ. 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.

Carro MD y Ranilla MJ. 2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *Br. J. Nutr.* 89: 279-288.

Goering MK y Van Soest PJ. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv.*, USDA. Washington DC.

López S, Newbold CJ, Tejido ML, Bochi O y Wallace RJ. 1999. Modificación de la fermentación ruminal in vitro por precursores metabólicos de los ácidos grasos volátiles. *ITEA*, Vol. Extra 20, Nº2: 517-519.

Martin SA y Streeter MN. 1995 Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Anim. Sci.* 73: 2141-2145.

EFECTOS DEL MALATO (*RUMALATO®*) EN PIENSOS DE ENGORDE DE CORDEROS A BASE DE CEBADA O MAIZ: II. DIGESTIBILIDAD DE NUTRIENTES

C. Flores[1], G. Caja[1], R. Romero[1] y J. Mesiá[2].
[1]Grup de Recerca en Remugants. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra; [2]Norel & Nature Nutrición SA, 08185 Lliçà de Vall.

INTRODUCCION

El uso de las sales del ácido málico como aditivo en el pienso, ha mostrado tener efectos positivos en el crecimiento e índice de conversión de rumiantes de engorde, tanto en terneros (Streeter *et al.*,1994; Martin, 1998) como en corderos (Caja *et al.*, 2000; Garín *et al.*, 2001). En este sentido, los resultados han sido confirmados al utilizar malato en forma de *Rumalato®* en corderos (Flores *et al.*, 2003), aunque se desconocen las razones que justifican las mejoras en los rendimientos productivos.

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del malato (*Rumalato®*, Norel & Nature Nutrición SA) sobre la digestibilidad de corderos en cebo alimentados con piensos elaborados a base de cereales.

MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se realizó en la Granja Experimental del S1GCE de la Universitat Autònoma de Barcelona, utilizando los mismos piensos de engorde de corderos a base de cebada y maíz (18% PB y 1.00 UFC/kgMS), con o sin *Rumalato®*, que en la experiencia anteriormente descrita por Flores *et al.* (2003).

Para ello se utilizaron un total de 12 corderos machos de raza Manchega (14.9 kg PV) recién destetados y que fueron adaptados a las condiciones experimentales durante 2 semanas. Ocho de los corderos fueron asignados al azar a los 4 piensos experimentales (C = cebada; CR = cebada + Rumalato®; M = maíz; MR = maíz + Rumalato®), según un diseño en cuadrado Latino 4 x 4 (piensos x periodos) por duplicado. Se utilizaron 8 jaulas de metabolismo adaptadas para corderos en crecimiento, con separación de heces y orina. Los corderos restantes se alimentaron con una mezcla de los piensos experimentales y permanecieron como reserva en un alojamiento con cama de paja. Cada periodo experimental fue de 21 d (14 d de adaptación y 7 d de medición), en los que se controló la ingestión individual de pienso y paja, ofrecidos *ad libitum*, el PV de los corderos, el pH y consistencia de las heces y se recogieron muestras de alimento (ofrecido y rechazado), heces y orina. Los corderos fueron sacrificados al final de la experiencia con un PV medio de 42 kg.

A partir de las muestras diarias, se preparó una muestra representativa de cada cordero en cada semana de recogida, para su posterior análisis. Las muestras de heces y orina se mantuvieron en congelación (-20 ºC) hasta su análisis. Las muestras de alimento y heces, previamente desecadas y molidas con tamiz de 1mmø, se analizaron en MS, MO, PB (N × 6.25 6.25, Kjeltec Tecator, Hogänäsa), GB (excepto en heces y paja) según AOAC (1995) y la energía bruta mediante una bomba adiabática (IKA

Calorimeter C-4000, Janke & Kunkel). La FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991) se analizaron con un autoanalizador ANKOM^{200} (Ankom Technology, Fainport, Nueva York). El pH de las heces fue medido en una disolución de 10 g de heces secas con 20 ml de agua destilada. Todos los datos obtenidos se procesaron mediante el PROC MIXED del SAS (2000).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en este experimento se muestran en la **Tabla 1** y resultan concordantes con los obtenidos en la experiencia previa (Flores *et al.*, 2003), aunque su magnitud se vio afectada por el elevado peso final de los corderos, por lo que en alguna variable únicamente se registraron tendencias o no fueron significativos los efectos, debido al pequeño tamaño muestral.

La ingestión de MS disminuyó en las raciones a base de maíz ($P < 0.05$) y con *Rumalato*® ($P < 0.06$). La ingestión de paja fue muy reducida en todos los casos (4-5%), a la vez que inferior a lo indicado en corderos en cebo intensivo, y no se vio afectada por el tipo de pienso. La adición de *Rumalato*® mejoró el índice de conversión (-18%, $P < 0.05$), tanto en el caso de los piensos a base de cebada como de maíz.

Tabla 1. Efectos del malato sobre el crecimiento y la digestibilidad de corderos en cebo (15-42 kg PV) en condiciones de jaulas de metabolismo.

	Tratamiento					Efecto ($P <$)	
Item	C[1]	CR[2]	M[3]	MR[4]	±SEM	Malato	Cereal
PV medio, kg	29.5	29.0	28.4	27.7	-	0.999	0.943
ADP, g/d	277	324	290	308	10	0.151	0.039
Ingestión, kgMS/d							
Concentrado	1.092	1.065	1.029	0.972	0.052	0.132	0.144
Paja	0.049	0.052	0.059	0.055	0.004	0.775	0.856
Total	1.141^{a}	1.127^{ab}	1.088^{ab}	1.027^{b}	0.056	0.054	0.040
IC, kgMS/kgPV	4.20^{a}	3.43^{b}	3.97^{a}	3.31^{b}	0.12	0.003	0.354
Digestibilidad, %							
MS	78.1^{b}	82.1^{a}	79.3^{b}	83.1^{a}	0.7	0.001	0.399
MO	81.0^{b}	84.5^{a}	82. 2^{b}	85.6^{a}	0.6	0.001	0.288
PB	78.3^{b}	82.2^{a}	76.1^{b}	81.2^{a}	0.8	0.001	0.237
FND	39.8^{b}	49.7^{a}	42.1^{b}	48.6^{a}	2.3	0.001	0.491
FAD	47.4^{b}	55.9^{a}	54.9^{b}	59.2^{a}	2.4	0.017	0.007
EB	80.6^{b}	83.4^{a}	81.4^{b}	84.5^{a}	2.4	0.003	0.344
Heces							
pH	7.01	7.05	6.84	6.85	0.12	0.983	0.001
Consistencia	Blanda	Normal	Blanda	Normal	-	-	-

[a, b]: letras diferentes indican diferencias a $P < 0.05$. [1]C = Cebada; [2]CR = Cebada + Rumalato®; [3]M = Maíz; [4]MR = Maíz + Rumalato®.

La digestibilidad de los nutrientes así como de la energía, aumentó en todos los casos por la adición de *Rumalato*® al pienso ($P < 0.05$ a $P < 0.001$). El efecto del

Rumalato® fue mas marcado que el del tipo de cereal, que únicamente afectó a la digestibilidad de la FAD ($P < 0.05$). En todos los casos la dFAD resultó superior a la dFND, fenómeno que ha sido también descrito en el caso de raciones cebo intensivo de cabritos y corderos (Bueno *et al.*, 2002; Sanz Sampelayo *et al.*, 2002).

El aumento obtenido en la digestibilidad de los nutrientes, y de forma especial en la digestibilidad de la energía, explica los menores índices de conversión de los corderos que consumieron malato, tal como fue observado previamente por Garín *et al.* (2001) y Flores *et al.* (2003) en corderos. La mejora en la digestibilidad de la energía y proteína justificaría la reducción de sus valores en los piensos, para igualdad de rendimientos productivos, lo que abarataría las fórmulas.

Los efectos del malato en la digestibilidad de los nutrientes podrían ser explicados por la mejora esperada de la fermentación ruminal (Martin *et al.*, 2000) y el aumento del pH por la disminución de ácido láctico en el rumen (Callaway y Martin, 1997), lo que mejorará la actividad fermentativa de los microorganismos ruminales (Martin y Streeter, 1995). Efectos semejantes en la desaparición de la MS y de algunos componentes de la pared celular (FND y hemicelulosa) han sido también observados por Carro *et al.* (1999) en condiciones *in vitro*.

Pese a las diferencias en el pH de las heces en las raciones a base de cebada y maíz, indicando la fermentación del almidón de maíz no degradado en el rumen en tramos posteriores del digestivo, no se observaron diferencias en el caso de las raciones con *Rumalato*®. Pese a ello, las raciones con malato presentaron heces de consistencia y morfología normal, mientras que fueron pastosas o formaron agregados en el caso del pienso control a base de cebada y, especialmente, en el de maíz. En estos casos se apreciaron problemas de trastornos digestivos.

Tomando como base los resultados obtenidos en este experimento, se puede concluir que el malato, en forma de *Rumalato*®, mejora la digestibilidad de los nutrientes y la consistencia de las heces, lo que justifica su empleo en los piensos de engorde de corderos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists. 1995. 16th ed., AOAC, Arlington, Virginia.

Bueno M.S., Ferrari E., Bianchini D., Leinz F.F., Rodríguez C.F.C. 2002. Small Rum. Res. 46:179-185.

Caja G., Garín D., Mesià J. 2000. Feed Int., Aug.: 23-25.

Callaway T.R., Martin S.A. 1997. J. Dairy Sci. 80:1126-1135.

Carro M.D., López S., Valdés C., Ovejero F.J. 1999. Anim. Feed Sci. Technol. 79:279-288.

Flores C., Caja G., Mesià J. 2003. ITEA Prod. Animal. 23 (vol. extra), en esta misma obra.

Garín D., Caja G., Mesià J. 2001. Options méditerranéennes, cahiers, 54:181-184.

Martin S.A. 1998. J. Anim. Sci. 76:3123-3232.

Martin S. A., Sullivan H.M., Evans J.D. 2000. J. Dairy Sci. 83:2574-2579.

Martin S.A., Streeter M.N. 1995. J. Anim. Sci. 73:2141-2145.

Sanz Sampelayo M.R., Pérez L., Martín J.J., Gil F., Boza J. 2002. Small Rum. Res. 43:133-139.

SAS. 2000. SAS User's Guide, v. 8.1. Institute Inc., Cary, NC, USA.

Streeter M.N., Nisbet D.J., Martin S.A., Williams S.E. 1994. J. Anim. Sci. 72 (Suppl. 1): 384 (Abstr.).

Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II. 750-752

OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE MONENSINA SÓDICA EN PIENSO

N. Prieto, L.J. Castro, M.J. Mora, P. Lavín, A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080. León

INTRODUCCIÓN

El empleo de sustancias de acción farmacológica en alimentación animal puede dar lugar a la aparición de las mismas o de sus residuos en los alimentos, con el consiguiente riesgo para la Salud Pública.

La monensina es un compuesto farmacológicamente activo, catalogado como antibiótico ionóforo, tratándose en concreto de un poliéter monocarboxílico (Richardson et al. 1976) que se comercializa en forma de sal sódica. Se obtiene a partir de la fermentación de una cepa de *Streptomyces cinnamonensis*, bacteria que se encuentra comúnmente en muestras de suelos, siendo aislada por primera vez en 1967 por Haney y Hoehn. Tanto su función coccidiostática en pollos, como su actividad promotora de crecimiento, han extendido su uso en las producciones pecuarias, si bien, el empleo de monensina es sólo temporal ya que la Comisión de la Unión Europea propuso su prohibición a partir de enero de 2006. No obstante, la utilización de monensina está restringida, actualmente, en varios proyectos de producción de carne de calidad.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar la sensibilidad de diferentes microorganismos a la acción de la monensina, con el fin de desarrollar un método eficaz, basado en la inhibición del crecimiento microbiano, para la detección de monensina en piensos y en premezclas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de esta prueba experimental se siguió el método microbiológico de difusión en placa y se testaron cuatro microorganismos: *Escherichia coli* CECT 434, *Bacillus subtilis* BGA CECT 482, *Bacillus stearothermophilus* CECT 47 *y Bacillus cereus* CECT 5051. Para ello, se prepararon placas de cada microorganismo, empleando como medio de cultivo Agar Mueller-Hinton (Merck 05437). En el caso de *Bacillus subtilis* BGA, se prepararon también placas utilizando Agar de ensayo pH 6.0 (Merck 10663) y Agar de ensayo pH 8.0 (Merck 10664).

En una primera etapa, se estudió el efecto de distintas concentraciones (100; 50; 10; 1; 0,5; 0,1; 0,05 y 0,01 μg/ml) de monensina sódica (Sigma M 5273) sobre el crecimiento de los distintos microorganismos anteriormente señalados. En cada placa de cultivo, se colocaron los siguientes discos de papel de filtro (Whatman 1; 6 mm de diámetro): tres discos impregnados con 20 μl de una de las concentraciones problema, tres discos impregnados con una concentración fija de 50 μg/ml, que se utilizó de referencia, y un disco que sirvió como control negativo. Para cada una de las concentraciones estudiadas se emplearon 3 placas, de manera que se prepararon un total de 24 placas por microorganismo y medio de cultivo utilizado.

Las placas se incubaron en estufa durante diferentes horas y temperaturas según el microorganismo a ensayar (ver tabla 1) y realizado el período de incubación, se midieron los halos de inhibición de crecimiento que aparecieron alrededor de los discos, cuantificando éste a partir de 0,5 mm de distancia del

extremo exterior del disco. Posteriormente, se procedió a la corrección de los valores obtenidos para cada concentración, en base a los valores obtenidos de la concentración de referencia, obteniendo así, unas rectas de calibrado.

En una segunda etapa se realizó la validación del método más sensible, según los resultados obtenidos en la etapa 1. Para tal fin, se elaboraron cuatro piensos con concentraciones variables de monensina sódica (300; 100; 50 y 25 μg/g). Una vez obtenidos los piensos problema, se procedió a la extracción del ionóforo según el procedimiento oficial descrito por el Analytical Methods Committee (1981). Los extractos obtenidos se emplearon para realizar el estudio, de manera que en cada placa de cultivo se colocaron los siguientes discos: tres discos impregnados con 20 μl de uno de los extractos obtenidos, tres discos impregnados con una concentración fija de 1 μg/ml, que se utilizó de referencia, y un disco que sirvió como control negativo. Para cada extracto de pienso se prepararon tres placas, de manera que se estudiaron un total de 12 placas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la tabla 1, existen diferencias cuantitativamente importantes entre los diferentes microorganismos testados. Así, *Escherichia coli* fue el microorganismo menos sensible experimentalmente, siendo el coeficiente de determinación entre la concentración de monensina y el diámetro del halo de inhibición de 0,69. En el lado opuesto, se situó el microorganismo *Bacillus stearothermophilus,* con un coeficiente de determinación de 0,94 y una concentración mínima inhibitoria de 0,0206 μg/ml.

Resultados similares fueron encontrados por Kožárová y Máté (2000), aunque el rango de concentraciones de monensina en el cual observaron los halos de inhibición, en el caso de *Bacillus stearothermophilus,* fue de 1 a 1000 μg/ml, claramente superior al empleado en el presente estudio.

Tabla 1: Coeficiente de determinación (r^2) de las ecuaciones de predicción (concentración monensina = a + b . halo inhibición) y concentración mínima inhibitoria teórica (CMI) para los diferentes microorganismos.

Microorganismo	ufc/ml	Medio de cultivo sólido	pH	T° (°C)	Horas	Concentración (μg/ml)	r^2	a	b	CMI (μg/ml)
Escherichia coli CECT	10^6	Mueller-Hinton (Merck 05437)	7,4	37±1,0	18	0,1-100	0,6897	22,1	2,3228	0,.0029
Bacillus cereus CECT 5051	10^5	Mueller-Hinton (Merck 05437)	7,4	37±1,0	18	0,1-100	0,9091	-3,0	0,2474	0,2924
Bacillus subtilis BGA CECT 482	10^4	Agar de ensayo (Merck 10633)	6	30±1,0	18	0,1-100	0,9145	-3,4	0,3195	0,2986
		Mueller-Hinton (Merck 05437)	7,4	30±1,0	18	0,1-100	0,9594	-2,7	0,1879	0,2563
		Agar de ensayo (Merck 10664)	8	30±1,0	18	0,1-100	0,8168	-3,0	0,2394	0,2660
Bacillus stearothermophilus CECT 47	10^5	Mueller-Hinton (Merck 05437)	7,4	63±2,0	8	0,01-10	0,9383	-5,6	0,2536	0,0206

Cuando se llevó a cabo la validación, en la prueba inicialmente realizada con los extractos obtenidos, de acuerdo con el procedimiento descrito, no se pudieron estudiar las placas, ya que se produjo una inhibición total. Por ello se procedió a realizar la repetición del ensayo con una dilución (1/10) de las extracciones

originales, obteniendo los resultados reflejados en la tabla 2. Como puede observarse, el halo de inhibición experimental fue claramente inferior al halo teórico, lo cuál probablemente se debe a que el procedimiento de extracción no fue totalmente eficaz, si bien fue relativamente proporcional a las diferentes concentraciones de los piensos experimentales, como sugiere la gradación observada en el diámetro de los halos experimentales. Además, la relación entre el diámetro de los halos teórico y experimental fue relativamente constante (63,8±1,35). En cualquier caso, el método de extracción y el de detección fueron suficientemente sensibles para detectar la presencia de monensina sódica.

Tabla 2: Concentración de monensina en los extractos obtenidos de los piensos experimentales con diferentes contenidos de monensina y valores medios de los diámetros del halo teórico y experimental obtenidos a partir de dichos extractos .

Concentración [1]	Halo inhibición Teórico (mm)	Halo inhibición Experimental (mm)
6,0 µg/ml	29,2 ± 3,27	19,0 ± 6,89
2,0 µg/ml	25,0 ± 3,53	16,7 ± 3,02
1,0 µg/ml	23,0 ± 4,01	14,4 ± 1,99
0,5 µg/ml	20,3 ± 4,04	12,3 ± 1,05

[1] Concentración de monensina en el extracto obtenido del pienso experimental

De estos resultados, podemos concluir que *Bacillus stearothermophilus* es el microorganismo más sensible de los testados para la detección de monensina sódica en pienso, lo que permite detectar bajas concentraciones de este aditivo. Una ventaja adicional de este microoorganismo es su rápido crecimiento, que permite obtener resultados relativamente rápidos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del contrato de investigación entre el CSIC y la empresa "Núcleo de Explotaciones Agropecuarias de León, NEAL, S.A.". N. Prieto disfrutó de una beca predoctoral del CSIC - UNIDADES ASOCIADAS UNIVERSIDADES.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANALYTICAL METHODS COMMITTEE (1981). Microbiological assay of low levels of monensin in animal feeds. *Analyst*, **106**, 788-789.

HANEY, M.E. and HOEHN, M.M. (1967). Monensin, a new biologically active compound. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1**, 349-352.

KOŽÁROVÁ, I. and MÁTÉ, D. (2000). Evaluation of the sensitivity of individual test organisms to residual concentrations of selected types of anticoccidial drugs. *Bulletin Veterinary Institute Pulawy,* **44**, 187-192.

RICHARDSON, L.F.; RAUN, A.P.; POTTER, E.L.; COOLEY, C.O. and RATHMACHER, R.P. (1976). Effect of monensin on rumen fermentation in vitro and in vivo. *Journal of Animal Science,* **43**, 657-663.

INGESTIÓN VOLUNTARIA Y FERMENTACIÓN RUMINAL DE PAJA TRATADA CON DIFERENTES NIVELES DE EXTRACTO VEGETAL ORGÁNICO DE REMOLACHA (VINAZA).

B. Fernández, G. Hervás, F.J. Giráldez, P. Frutos, A. R. Mantecón.
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788. 24080. León

INTRODUCCIÓN

El extracto vegetal orgánico de la remolacha (EVO), o vinaza, es un subproducto de la industria agroalimentaria resultante de la fermentación de la melaza. En la Unión Europea se producen en torno a 1 millón de toneladas, de las cuales aproximadamente un 10% se producen en España (Lewicki, 2001).

Su composición química es muy variable, aunque cabe destacar su elevado contenido de agua, proteína bruta y minerales, fundamentalmente potasio (INRA, 1988; de Blas *et al.*, 1999). El alto contenido de proteína bruta, mayoritariamente en forma de aminoácidos, le confiere un interés fundamentalmente como aporte proteico, y más concretamente de proteína degradable en el rumen, fundamentalmente para complementar forrajes o subproductos energéticos utilizados en la alimentación de los rumiantes (INRA, 1988). En contraposición, el elevado contenido de potasio y de nitratos es un factor limitante de su empleo, ya que podría ocasionar problemas para la salud de los animales (Rasby *et al.*, 1988).

No obstante, a la hora de realizar recomendaciones para su empleo en la alimentación de rumiantes nos encontramos con un doble problema. Por una parte, los estudios son escasos y, por otra, los resultados publicados son dispares y a veces contradictorios, lo que hace difícil establecer con cierta fiabilidad los niveles de inclusión en la dieta (Chapoutot, 1985; Troccon y Demarquilly, 1989; Lagrange, 1990; de Blas *et al.*, 1999).

En este trabajo se ha analizado el efecto de la adición de vinaza a la paja de cebada sobre la fermentación ruminal in vitro de ésta, la ingestión voluntaria, la evolución de peso vivo y la concentración plasmática de aniones y cationes en ovejas adultas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En una primera prueba experimental, se utilizaron 18 ovejas adultas de raza Merina, con un peso medio de 66,4 ± 5,71 kg, distribuidas en 3 grupos experimentales de 6 animales cada uno en función del tratamiento (paja de cebada sin tratar o tratada con un 25 y un 50% de EVO). La vinaza empleada en esta prueba fue suministrada por la empresa Azucarera Ebro, S.L. y su composición química fue la siguiente: 508 g MS/kg, 298 g cenizas/kg MS, 289 g PB/kg MS, 11 g NO^{3-}/kg MS y 94 g K^{+}/kg MS.

Durante un período experimental de 17 días se controló, diariamente, la ingestión de alimento, tomándose muestra del alimento rehusado para determinar su contenido de materia seca. Los animales se pesaron dos veces, al inicio y al final de la prueba. Además, los días 1, 8 y 17 de experimento se tomaron muestras de sangre para estudiar la concentración plasmática de aniones (nitratos y nitritos) y cationes (Na^{+} y K^{+}) mediante cromatografía iónica.

En la segunda prueba, se incubó la paja tratada con 0, 25 y 50% de EVO, mediante la técnica in vitro de producción de gas descrita por Mauricio *et al.* (1999). Para ello, se pesaron, por triplicado, 500 mg de cada muestra en botellas de 125 ml de

volumen y se incubaron a 39°C con 10 ml de líquido ruminal y 40 ml de medio de cultivo. Se emplearon dos inóculos ruminales, extraídos cada uno, antes de la administración de la comida de la mañana, de dos ovejas Merinas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa.

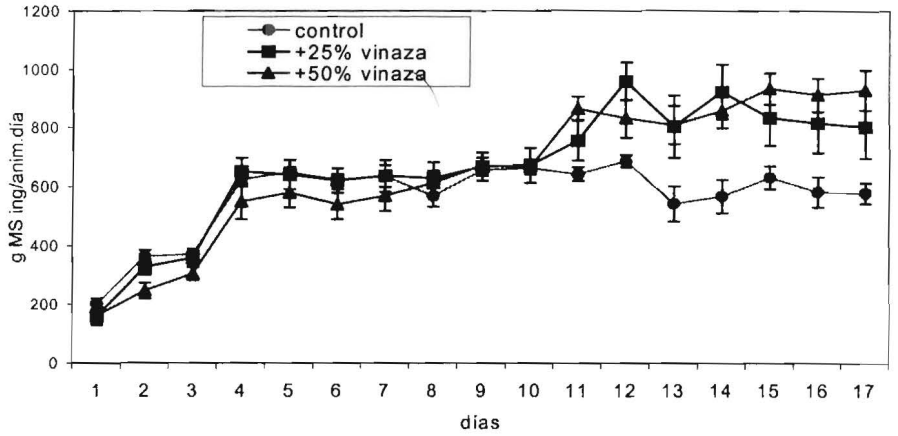
La producción de gas se midió a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas de incubación utilizando un transductor de presión. La producción acumulada de gas se ajustó al modelo descrito por France *et al.* (1993) para obtener los parámetros descriptivos de la cinética de producción de gas: producción asintótica de gas (A, ml), tiempo de retraso ("lag time"; L, h), tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (T/2, h) y ritmo de producción de gas en T/2 (μ, h^{-1}).

Todos los ajustes matemáticos de las curvas de producción de gas y los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SAS (SAS 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el conjunto del experimento no se observaron diferencias significativas (P>0,05) en la ingestión de materia seca. Ahora bien, tal y como puede observarse en la Figura 1, parece que tras un periodo corto de habituación, de aproximadamente 10 días, los animales consumen una mayor cantidad de alimento cuando se administra paja tratada con vinaza.

Figura 1.- Evolución de la ingestión voluntaria de la paja de cebada tratada con 0, 25 o 50% de vinaza (g MS $animal^{-1}$ $día^{-1}$).



Estas diferencias podrían atribuirse, en parte, a que la digestibilidad de la vinaza es elevada y por ello la mezcla de paja y EVO es superior a la de la paja. De hecho, como se puede observar en la Tabla 1, la desaparición de la MS in vitro fue significativamente mayor en la paja tratada.

Por otra parte, también cabe la posibilidad de que la mezcla con vinaza mejore la degradabilidad de la paja, ya que la vinaza tiene un contenido relativamente alto de proteína degradable en el rumen y la paja es un alimento con un bajo contenido de N, que puede ser limitante para el crecimiento microbiano. Además, el efecto sobre el crecimiento microbiano puede variar con la fuente de N y en el caso de la vinaza, la mayor parte del nitrógeno está constituido por aminoácidos, que podrían estimular el crecimiento de las bacterias celulolíticas y aumentar la degradabilidad de la paja. En este sentido, en la prueba de fermentación

in vitro se observó un incremento en el ritmo de producción de gas, que podría estar relacionado con un incremento en la actividad degradativa.

Tabla 1.- Características de la fermentación ruminal *in vitro* y desaparición de MS a tiempo final (DMS; g/kg MS) de la paja de cebada tratada con 0, 25 y 50% de vinaza.

	Control	+ 25%	+ 50%
A (ml/g MO)	297 (5,7)	286 (3,0)	282 (2,1)
T/2 (h)	$25,5^{a}$ (0,68)	$22,5^{ab}$ (0,42)	$20,9^{b}$ (0,68)
μ (h^{-1})	$0,037^{c}$ (0,0017)	$0,044^{b}$ (0,0004)	$0,051^{a}$ (0,0004)
L (h)	1,7 (0,14)	2,0 (0,30)	2,5 (0,45)
DMS (g/kg MS)	689^{b} (1,1)	711^{b} (7,4)	744^{a} (5,1)

$^{a, b, c}$ Valores con diferente superíndice dentro de la misma línea difieren significativamente (P<0.05)

La evolución del peso corporal experimentada por los animales estuvo en concordancia con los datos de ingestión y de fermentación. Así, aunque en todos los grupos experimentales se observó una reducción del peso de los animales, ésta fue mayor (P<0,11) en los animales del grupo control (-4,9± 1,43 kg) que en los que recibieron paja tratada con un 25 (-2,3±0,64 kg) o un 50% (-2,3±0,59 kg) de EVO.

Algunos autores han señalado que, debido a su elevado contenido de nitratos y potasio, la vinaza no debería incluirse en más de un 4% de la ración en ovejas (de Blas *et al.*, 1999). En el presente estudio, se ha superado con gran diferencia este nivel de inclusión, y no se observó signo alguno de intoxicación. Asimismo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) ni entre tratamientos ni entre días en la concentración plasmática de potasio ni de nitratos. Los valores medios de K^{+} y de NO_3^{-} fueron, respectivamente, de 209±5,7 y 10,6±0,68 ppm para el grupo control, 199±5,5 y 10,6±0,77 ppm para los animales que consumieron paja tratada con un 25% de EVO y 196±5,3 y 11,2±0,41 ppm para los animales que consumieron paja tratada con un 50% de EVO. La concentración de nitritos fue en todos los casos inferior a 1 ppm.

Se puede concluir que, en las condiciones del presente estudio, el consumo de vinaza, en proporciones de hasta el 50 g/100 g de paja (sobre materia fresca) no parece producir, a corto plazo, efectos negativos en ovejas no productivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chapoutout, P. 1985. *Frisona Española*, 79-84.

De Blas, C., Mateos, G.G. y Rebollar, P.G. 1999. *Normas Fedna para la formulación de piensos compuestos*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid.

France, J., Dhanoa, M.S., Theodorou, M.K., Lister, S.J., Davies, D.R. and Isac, D. 1993. *Journal of Theoretical Biology*, 24, 383-397.

INRA. 1988. *Tables de L'alimentation des bovins, ovins & caprins*. INRA, Paris.

Lagrange, M.M. 1990. *Revue de medecine Veterinaire*, 141, 879-880.

Lewicki, W. 2001. *International Sugar Journal*, 103, 126-128.

Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S. and Theodorou, M.K. 1999. *Animal Feed Science and Technology*, 79, 321-330.

Rasby, R., Stock, R., Anderson, B. and Schneider, N. 1988. *Nitrates in livestock feeding. Institute of Agricultural and Natural Resources.* University of Nebraska-Lincoln.

Troccon, J.L. et Demarquilly, C. 1989. *La vinasse de melasse de betterave pour les ruminants.* INRA, Paris.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 756-758

EFECTO DEL EXTRACTO DE AJO Y/O EL CINAMALDEHÍDO SOBRE LA PRODUCCIÓN, COMPOSICIÓN Y RESIDUOS EN LECHE EN VACAS DE ALTA PRODUCCIÓN

M. Busquet[1], H. Greathead[2], S. Calsamiglia[1], A. Ferret[1] y C. Kamel[2]
[1]Dept. de Ciència Animal y dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, España
[2]Institute for Plant Biotechnology and Agriculture University of Leeds, UK.

INTRODUCCIÓN

Estudios in vitro realizados con un sistema de doble flujo continuo en nuestro laboratorio demostraron que el cinamaldehído (principal componente del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum*) y el extracto de ajo (*Allium sativa*) mejoran la eficiencia de utilización de los nutrientes en el rumen, disminuyendo la relación acetato:propionato (Busquet *et al.*, 2003) y la producción de amoníaco (Cardozo *et al.*, 2002). Aunque resultados similares ya han sido observados con otros extractos de plantas en diferentes estudios in vitro (Evans *et al.*, 2000; Hristov *et al.*, 1999), no existen estudios in vivo que confirmen los efectos de estos extractos sobre la producción y composición de la leche. Asimismo, es necesario determinar la presencia de residuos en los productos derivados (leche y carne) de los animales.

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del extracto de ajo y el cinamaldehído sobre la producción, composición y residuos en leche en vacas de alta producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 vacas Holstein multíparas en un diseño experimental de cuadrado latino 4 x 4. Las vacas pertenecían al rebaño de la granja Wise Warren, propiedad de la Universidad de Leeds (Inglaterra). La ración base administrada a los animales consistió en una ración Unifeed 75% forraje (ensilado de maíz y pradera) y 25% concentrado (gluten de maíz, cebada y un corrector vitamínico mineral).

Los tratamientos se administraron en el concentrado (17% PB, 5% extracto etéreo, 9% FND) ofrecido a los animales ad libitum en la sala de ordeño (05:00 y 15:00 horas). Los 4 tratamientos fueron: concentrado control (CTR, sin aditivo), cinamaldehído (CIN, 600 mg/kg de concentrado), extracto de ajo (GAR, 600 mg/kg de concentrado) y una mezcla (MIX) de 50% cinamaldehído y 50% extracto de ajo (1200 mg/kg de concentrado). Cada período duró dos semanas, con 10 días de adaptación y cuatro días de muestreo.

Durante los 4 días de muestreo se midió la ingestión de concentrado (en MS), la producción de leche, la composición de la leche (grasa, proteína, lactosa, nitrógeno ureico en leche y células somáticas) y residuos de los aditivos en leche. El análisis de composición de la leche fue realizado mediante un aparato NIR y los residuos de los aditivos en leche se determinaron por cromatografía líquida ligada a un espectofotómetro de masas.

Los resultados fueron analizados utilizando el programa PROC MIXED, para medidas repetidas, del paquete estadístico SAS (SAS, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ingestión de concentrado (g MS/d, IMS) fue menor para los tratamientos CIN y MIX respecto al GAR, y para CIN respecto al CTR (Tabla 1). La disminución en el consumo de concentrado con CIN parece indicar que este aditivo disminuye la palatabilidad del alimento. Esta observación coincide con algunos estudios realizados con derivados del ácido cinámico en los que parece inhibir la ingestión en algunas especies de vertebrados (Gurney *et al.*, 1996).

No se observó ningún efecto ($P>0.05$) de los tratamientos sobre la producción de leche ni sobre la concentración de grasa (media de 2.73%), proteína (media de 3.11%), lactosa (media de 4.74%) o células somáticas (media 77600 células somáticas/ml, CCS) en leche. La concentración de grasa en leche fue inferior al estándar de la raza, y sugiere que las vacas se encontraban en una situación de acidosis. Aunque este efecto se observó en todos los tratamientos, se desconoce en qué medida pudo afectar a la acción de los aditivos.

Tabla 1. Efecto de los aditivos extracto de ajo, cinamaldehído y una mezcla 50% extracto de ajo y cinamaldehído sobre la ingestión de la MS, producción de leche, composición de la leche y contaje de células somáticas.

	Tratamientos					
	CTR	GAR	CIN	MIX	EE[2]	P<[3]
IMS (g MS/d)[1]	3101.8^{ab}	3268.6^{a}	2593.7^{c}	2731.8^{bc}	190.5	0.00
Producción leche (l/d)	37.0	38.5	38.0	38.0	1.15	0.61
Composición leche (%)						
Grasa	2.77	2.69	2.78	2.70	0.11	0.23
Proteína	3.14	3.12	3.11	3.10	0.02	0.53
Lactosa	4.76	4.73	4.75	4.73	0.02	0.53
NUL (mM)	7.94^{a}	7.64^{b}	8.01^{a}	8.05^{a}	0.14	0.01
CCS (log)	1.87	1.87	1.91	1.93	0.08	0.86

[1] Del concentrado.
[2] EE = error estándar de la media.
[3] P< = significancía estadística del efecto tratamiento.
[a, b, c] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

La concentración de nitrógeno ureico en leche (NUL, mM) en el tratamiento GAR (7.64) disminuyó en un 3.77% respecto al CTR (7.94), CIN (8.01) y MIX (8.05). Existe una correlación elevada entre la concentración de N amoniacal en el rumen y la concentración de urea en leche (Rajala-Schultz *et al.*, 2001). Aunque la disminución de la concentración de urea en leche en el presente estudio concuerda con la disminución en la concentración de N amoniacal observada en estudios in vitro (Cardozo *et al.*, 2001; Busquet *et al.*, 2003) la magnitud de esta reducción fue pequeña.

La dosis administrada de aditivo (0.54 g/kg de MS concentrado) para cada tratamiento fue calculada para un consumo aproximado de 4500 g/d de MS de concentrado (2.4 g/d de aditivo). Esta dosis se determinó a partir de la extrapolación de resultados obtenidos en estudios previos in vitro (Busquet *et al,.* 2003). La ingestión real fue inferior (media de 3269 y 2594 g/d para GAR y CIN, respectivamente) lo que resultó en una dosis de 1.6 g/d. Además, es posible que el período de adaptación al aditivo (10 días) haya sido excesivamente corto.

En ninguno de los tratamientos se encontraron niveles significativos de residuos en leche.

CONCLUSIONES

El tratamiento con cinamaldehído disminuyó la ingestión de MS de concentrado. La suplementación de los animales con extracto de ajo disminuyó en un 3.77% la concentración de nitrógeno ureico en leche. El bajo consumo de concentrado por parte de los animales, la posible situación de acidosis y los pocos días de adaptación podrían explicar la falta de efectos más marcados de los aditivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A. y Kamel, C., 2003. ITEA, Vol. Extra (en prensa).

Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A. y Kamel, C., 2001. J. Dairy Sci. 84(Suppl. 1):326 (Abstr.).

Evans, J. D. y Martin S. A., 2000. Curr. Microbiol., 41: 336-340.

Gurney, J. E., Watkins, R. W., Gill, E. L. y Cowan, D. P., 1996. Appl. Anim. Behaviour Sci. 49:353-363.

Hristov, A. N. McAllister, B. A., Van Herk ,F.H., Cheng, K.J., Newbold, C. J. y Cheeke, P. R.,, 1999. J. Anim. Sci. 77:2554-2563.

Rajala-Scultz, P. J., Saville, W. J., Frazer, G. S. y Wittum, T. E., 2001. J. Dairy Sci. 84:482-489.

Statistical Analysis System. 1996, SAS Institute, Cary, NC.

RESULTADOS DEL EMPLEO DE ENZIMAS FIBROLÍTICAS (*PROMOTE*®) EN EL CONCENTRADO DE OVEJAS MANCHEGAS Y LACAUNE DURANTE LOS PERIODOS DE CRÍA Y ORDEÑO[1]

C. Flores, G. Caja, R. Casals, E. Albanell, X. Such, G. Vera y E. González
Grup de Recerca en Remugants. Departament de Ciència Animal i dels Aliments
Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.

INTRODUCCIÓN

El interés sobre el uso de enzimas fibrolíticas en la alimentación de rumiantes ha aumentado en los últimos años. Se han realizado así diversos estudios, principalmente en vacuno de leche y carne, y escasamente en ganado ovino. Hasta la fecha, sin embargo, los resultados sobre el uso de enzimas en rumiantes han sido variables. Así, Sánchez *et al.* (1996) han señalado aumentos en la producción de leche (14%) y en la condición corporal (13%) en vacas Holstein, al adicionar las enzimas al forraje de una ración completa. Beauchemin *et al.* (1997) indicaron mejoras en el crecimiento (11%), índice de conversión (11%) e ingestión de MS (5%) cuando se adicionaron enzimas al concentrado de terneros. En contraste, otros estudios no han obtenido efectos en vacuno lechero (Dhiman *et al.*, 2002) o en corderos de engorde (McAllister *et al.*, 1999). Por otro lado, no se dispone de información de su utilización en ovejas de leche.

Los objetivos de este estudio fueron evaluar los efectos de la inclusión de enzimas fibrolíticas en el concentrado sobre la ingestión y rendimientos productivos de ovejas lecheras.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 72 ovejas lecheras de raza Manchega (n = 36) y Lacaune (n = 6), durante las 12 primeras semanas de lactación, según un diseño factorial 2 × 2 (raza × tratamiento). Las ovejas permanecieron estabuladas en la granja experimental del S1GCE de la Universitat Autònoma de Barcelona, distribuidas en 8 grupos homogéneos (según raza, semana de parto, PV, CC y número de lactación). Los tratamientos fueron: Control (sin enzima) y Enzima (complejo enzimático fibrolítico Promote®, Agribrands, St Louis, Missouri; incluido al 0.47% en el concentrado). La ración (**Tabla 1**) consistió en 70% de forraje (maíz-alfalfa) y 30% de pienso granulado, ofrecidos *ad libitum* en dos tomas, al 115% del consumo del día anterior.

El estudio se inició al parto y se dividió en 2 periodos: cría (semanas 1-4) y ordeño (semanas 6-12). Los corderos se destetaron mediante el método de media leche, durante la semana 5.

Simultáneamente al ensayo de lactación, se utilizaron 24 ovejas vacías (Manchega, n = 12; y Lacaune, n = 12), distribuidas en 4 grupos homogéneos, para evaluar el valor lastre de la ración (INRA, 1989) durante un periodo de 5 semanas.

El PV de los corderos, PV y CC de las ovejas se registraron al parto y posteriormente cada semana. La CC se midió según una escala de 0 a 5 (Russell *et al.*, 1969) con incrementos de 0.25. En el periodo de cría, la producción de leche se estimó cada 2 semanas con el método de la oxitocina (Doney *et al.*, 1979).

[1] Proyecto CICYT: AGL 2001-2617. Los autores agradecen la colaboración de A. Bach y C. Torre (Agribrands, Europe-España, S.L.) y del equipo técnico del S1GCE (Servei de Granges y Camps Experimentals) de la UAB, en la realización del estudio.

Tabla 1. Composición de las raciones experimentales (% de MS)

Nutriente, %	Forraje[1]	Concentrado[2]		Ración completa	
		Control	Enzima[3]	Control	Enzima
MS	93.6	91.8	92.0	93.1	93.1
PB	11.7	24.0	24.4	15.2	15.5
FB	28.8	17.6	18.7	25.4	25.7
FND	45.8	27.5	28.3	40.3	40.5
FAD	27.3	16.7	18.0	24.1	24.5
NE_L,Mcal/kg[4]	1.4	1.5	1.5	1.4	1.4

[1]50% alfalfa y 50% maíz planta entera. [2]Ingredientes: alfalfa, 37.9%; cebada,10.7%; maíz, 11.7%; soja 44, 22.5%; girasol integral, 14.7%; $CaC0_3$, 1.0%. [3]Complejo enzimático (*Promote*®, aplicado en el concentrado, 0.47%); [4]Estimado a partir de tablas INRA (1989).

Después del destete, la producción de leche ordeñada se controló cada semana. La leche se analizó (quincenalmente) en GB, PB, proteína verdadera y caseína, mediante un equipo autoanalizador NIRS (InfraAlyzer 450D, Bran+Luebbe). Las ofertas y rechazos de alimento se analizaron semanalmente. Para MS y PB (N × 6.25, Kjeltec Tecator, Hogänäs, Suecia) se siguió la metodología del AOAC (1990). La FB, FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991) se analizaron con un autoanalizador ANKOM^{200} (Ankom Technology, Fainport, Nueva York). Todos los datos obtenidos se procesaron mediante el procedimiento PROC MIXED de SAS (2000).

RESULTADOS Y DISCUSION

Periodo de cría:

La adición de enzimas en el concentrado no afectó (**Tabla 2**) a la ingestión de MS, ni a la producción y composición de leche durante la cría. La raza tampoco tuvo efecto en la ingestión de MS y en la composición de leche pero, sin embargo, si afectó a la cantidad de leche ($P < 0.01$). Por otro lado, no se observaron efectos de la enzima o de la raza en el PV y CC de las ovejas, así como tampoco en el crecimiento de los corderos.

Periodo de producción:

Durante este periodo (**Tabla 2**), el complejo enzimático no afectó ni a la ingestión de MS ni a la producción de leche. En cambio, si se observó una tendencia a la disminución del porcentaje en grasa de la leche ($P < 0.06$) y un aumento en la ganancia de PV ($P < 0.001$). La falta de efecto en la ingestión y en la producción de leche concuerdan con lo obtenido por Beauchemin *et al.* (1999) en ganado vacuno suplementado con enzimas. Así mismo, la disminución de la grasa en leche concuerda con lo obtenido por Fredeen y McQueen (1993) y Rode *et al.* (1999) en vacas lecheras.

Sin embargo y de acuerdo a lo esperado, la raza afectó ($P < 0.001$) a la ingestión de MS, y a la producción y composición de leche. Así mismo, las ovejas Lacaune consumieron mayor cantidad de MS que las Manchegas, de acuerdo con la mayor demanda de energía para el funcionamiento de la glándula mamaria (Molina *et al.*, 2001) y la mayor producción de leche (Rovai, 2001).

Valor lastre de la ración:

La suplementación con el complejo enzimático redujo la ingestión de MS de la ración en las ovejas secas, siendo sus valores medios de 2.01 y 1.76 kgMS/d ($P < 0.001$), para la ración control y enzima, respectivamente, pero sin afectar a la

ganancia de PV o CC de las ovejas. La ingestión por peso metabólico fue de 80 y 75 kg MS/kgPV$^{0.75}$ (P < 0.001), lo que corresponde a 1.07 y 1.00 UEm, para las raciones control y enzima, respectivamente.

Tabla 2. Resultados de producción de leche de ovejas raza Manchega y Lacaune suplementadas con enzimas fibrolíticas

Variable	Tratamiento		Raza		±	Efecto (P <)		
	Control	Enzima	Mn[1]	Lc[2]	ESM	Enzima	Raza	E x R[3]
Periodo de cría:								
Ingestión, kg/d	2.9	2.9	2.9	2.9	0.02	0.551	0.916	0.001
Leche, L/d	2.4	2.4	2.2	2.7	0.07	0.930	0.004	0.529
LE[6]	2.1	2.1	1.8	2.4	0.07	0.922	0.001	0.579
Grasa, %	5.9	6.1	5.9	6.1	0.08	0.351	0.219	0.706
Proteína, %	5.2	5.3	5.2	5.3	0.03	0.170	0.458	0.840
Caseína, %	4.0	4.0	4.0	4.0	0.02	0.116	0.431	0.718
Eficiencia[7], kg/kg	0.7	0.7	0.6	0.8	0.02	0.864	0.001	0.141
Periodo de ordeño:								
Ingestión, kg/d	2.9	2.9	2.7	3.2	0.01	0.839	0.001	0.001
Leche, L/d	1.8	1.8	1.3	2.4	0.03	0.797	0.001	0.188
LE[6]	1.7	1.7	1.2	2.1	0.04	0.970	0.001	0.118
Grasa, %	6.8	6.5	7.1	6.3	0.06	0.060	0.001	0.620
Proteína, %	5.9	5.8	6.0	5.6	0.03	0.223	0.001	0.660
Caseína, %	4.5	4.4	4.6	4.3	0.02	0.294	0.001	0.545
Eficiencia[7], kg/kg	0.6	0.6	0.46	0.7	0.01	0.765	0.001	0.385

[1]Manchega; [2]Lacaune; [3]Interacción enzima x raza; [6]Leche estandarizada (Bocquier *et al.*, 1993) = Leche·[0.071·GB(%)+0.043·PB(%)+0.2224]; [7]Leche estandarizada/ingestión MS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists. 1990. (15th Ed). AOAC, Arlington, VA.

Beauchemin K.A., Jones S.D.M., Rode L.M., Sewalt V.J.H. 1997. Can. J. Anim. Sci. 77:645-653.

Beauchemin K.A., Yang W.Z., Rode L.M. 1999. J. Dairy Sci. 82:378-390.

Bocquier F., Barillet F., Guillouet Ph., Jacquin M. 1993. Ann. Zootech. 42:57-66.

Dhiman T.R., Zaman M.S., Jiménez R.R., Walters J.L., Treacher R. 2002. Anim. Feed. Sci. Technol. 101:115-125.

Doney J.M., Peart J.N., Smith W.F., Louda F. 1979. J. Agric. Sci. 92:123-132.

Fredeen A.H., McQueen R.E. 1993. Can. J. Anim. Sci. 73:581-591.

INRA.1989. INRA & John Libbey Eurotex, Paris.

McAllister T.A., Oosting S.J., Popp J.D., Mir Z.L., Yanke J.A., Hristov N., Treacher R.J., Cheng K.J. 1999. Can. J. Anim. Sci. 79:353-360.

Molina E., Ferret A., Caja G., Calsamiglia S., Such X., Gasa. 2001. J. Anim. Sci. 72:209-221.

Rode L.M., Yang W.Z., Beauchemin K.A. 1999. J. Dairy Sci. 82:2121-2126.

Rovai, M. 2001. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona.

Russell A.J.F., Doney J.M., Gunn R.G. 1969. J. Agric. Sci. 72:451-454.

Sánchez W.K., Hunt C.W., Guy M.A., Pritchard G.T., Swanson B.L., Warner T.B., Higgins J.M., Treacher R.J. 1996. J. Dairy. Sci. 79 (Suppl. 1):214 (Abstr.).

SAS. 2000. SAS User's Guide, v. 8.1. Institute Inc., Cary, NC, USA.

Van Soest P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE MALATO EN EL PIENSO DE CORDEROS EN CEBO, SOBRE LA INGESTIÓN, LA DIGESTIBILIDAD Y EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO

A. Cuesta[1], M.J. Ranilla[2], F.J. Giráldez[1], A.R. Mantecón[1] y M.D. Carro[2]

[1]Estación Agrícola Experimental de León (CSIC). Apdo 788. 24080 León.
[2]Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071. León.

INTRODUCCION

Ante la futura prohibición del empleo de promotores de crecimiento en la alimentación animal, es necesario encontrar sustancias alternativas que sean eficaces y seguras para la salud humana. En el caso de los animales rumiantes, se ha investigado la posibilidad de emplear ácidos orgánicos como modificadores de la fermentación ruminal. En diversos experimentos se ha observado que la adición de malato a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales (Martin y Streeter, 1995; Carro y Ranilla, 2003) o a fermentadores semicontinuos (Carro *et al.*, 1999) provoca modificaciones de la fermentación ruminal, similares a las producidas por los antibióticos ionóforos. Dichas modificaciones se traducen en un aumento del pH ruminal y de la producción relativa de propiónico, y en una disminución de la concentración de ácido láctico y de la formación de metano. En estos estudios también se ha observado que la respuesta obtenida a la adición de malato se puede ver afectada por el tipo de sustrato incubado (López *et al.*, 1999; Carro y Ranilla, 2003).

A pesar de las claras respuestas obtenidas *in vitro*, las respuestas observadas en los escasos estudios *in vivo* realizados hasta el momento son contradictorias, por lo que no está claro en qué condiciones de alimentación y producción las sales del ácido málico pueden ser efectivas. Además, la mayoría de la información disponible sobre el efecto del malato en animales en cebo se centra en el ganado vacuno. El objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos de la incorporación de malato en el pienso sobre la ingestión, digestibilidad y rendimiento productivo de corderos en cebo intensivo.

MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se utilizaron 16 corderos de raza Merina (peso vivo 15,3 ± 1,27 Kg), que se distribuyeron en función de su peso en dos grupos homogéneos, de 8 animales cada uno, que correspondieron con los tratamientos experimentales: **control** y **malato**. Los animales del grupo **control** recibieron paja de cebada y un pienso estándar de cebo (50 % de cebada, 30 % de maíz, 16 % de soja 44, 2,8 % de Rumimix®, 1 % de bicarbonato sódico y 0,2% de antifúngico), administrados ambos *ad libitum*. Los corderos del grupo **malato** recibieron la misma ración, pero al pienso se le añadió un producto compuesto por malato sódico y malato cálcico (relación 16:84). Dicho producto fue mezclado con el pienso a un nivel del 0,4 % (en materia fresca) inmediatamente antes de la administración del mismo. Durante todo el experimento los corderos permanecieron en jaulas individuales y dispusieron de agua a voluntad.

Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Proyecto AGL2001-0130) y la Junta de Castilla y León (Proyecto LE62/03). M.J. Ranilla disfruta de un contrato de investigación del MCYT (Programa Ramón y Cajal).

La ingestión de pienso se controló diariamente y la de paja se controló dos veces por semana. En ambos casos se tomaron muestras del alimento rehusado para determinar su contenido de materia seca. Los animales se pesaron al inicio del ensayo y, posteriormente, dos veces por semana hasta el momento del sacrificio estimándose la GDP por regresión. El día 15 del experimento los animales se trasladaron a jaulas metabólicas. Durante los días 19, 20, 21, 22 y 23 se recogieron y pesaron, diariamente, las heces producidas, y se tomó una muestra representativa (10 %), que se congeló a –30°C hasta la realización de los análisis. Las muestras del periodo de colección se mezclaron para obtener una única muestra por animal, la cual fue liofilizada y molida, y se determinó su contenido de nitrógeno, fibra neutro-detergente y cenizas.

El sacrificio de los animales se realizó a las seis semanas del inicio del experimento. La canal se pesó inmediatamente después del sacrificio y se pesó de nuevo después de 24 horas de oreo en una cámara a 4 °C. El efecto de la inclusión de malato en el pienso sobre los diferentes parámetros se estudió mediante un análisis de varianza (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede apreciarse en la tabla 1, los corderos del grupo **malato** consumieron alrededor de un 9% de pienso más que los del grupo **control**, si bien estas diferencias no alcanzaron el nivel de significación estadística (P>0,10). El consumo de paja fue similar en ambos grupos, y los bajos valores observados (55 y 53 g MS/d para los grupos **control** y **malato**, respectivamente) concuerdan con los obtenidos por nuestro grupo de trabajo en otras pruebas con corderos en cebo.

Tabla 1. Valores medios de ingestión total de materia seca (IMS), ingestión de paja (IP), ingestión de pienso (IPS), ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión (IC), peso de la canal caliente (PCC), peso de la canal fría (PCF), peso de la no canal (PNC) y del rendimiento comercial (RC), en los dos grupos experimentales

	Control	**Malato**	**Significación[1]**	**eed[2]**
IMS (g/d)	876	945	NS	40,0
IP (g/d)	55	53	NS	10,6
IPS (g/d)	821	891	NS	43,0
GDP (g/d)	292	308	NS	18,4
IC (g/g)	3,01	3,10	NS	0,230
PCC (kg)	12,38	12,54	NS	0,477
PCF (kg)	12,02	12,15	NS	0,459
PNC (kg)	9,31	9,78	NS	0,312
RC (%)	48,0	47,7	NS	0,86

[1]Significación estadística: NS, P>0,10
[2]eed: error estándar de la diferencia.

La ganancia media diaria de peso a lo largo del experimento fue de 292 g/d para el grupo **control** y de 308 g/d para el grupo **malato**, sin que se observaran diferencias significativas (P>0,10) entre ambos grupos. Estos valores de ganancia de peso son similares a los obtenidos previamente por nuestro grupo para corderos en cebo que recibían raciones similares. La inclusión de malato en el pienso no

afectó significativamente (P>0,10) al peso de la canal caliente, peso de la canal fría y al rendimiento comercial. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Martin *et al.* (1999), quienes administraron malato (100 g/d) a terneros en cebo durante 113 d y no observaron efecto alguno sobre la ingestión de materia seca, el índice de conversión y el peso de la canal.

Como puede observarse en la Tabla 2, la inclusión de malato en el pienso de los corderos no afectó significativamente (P>0,10) a la digestibilidad de los nutrientes. De forma similar, Montaño *et al.* (1999) tampoco observaron ningún efecto de la inclusión de ácido málico (80 g/d) en la ración (77 % de copos de cebada) de terneros en cebo sobre la digestibilidad de la materia orgánica y de la fibra neutro detergente.

Tabla 2. Valores medios de digestibilidad de la materia orgánica (DMO), proteína bruta (DPB) y de la fibra neutro-detergente (DFND) de la ración en los dos grupos experimentales

	Control	Malato	Significación[1]	eed[2]
DMO (%)	82,2	81,7	NS	0,01
DPB ((%)	76,7	76,3	NS	0,02
DFND (%)	50,1	48,4	NS	0,03

[1]Significación estadística: NS P>0,10
[2]eed: error estándar de la diferencia

En resumen, la inclusión de malato en el pienso de corderos en cebo no afectó a ninguno de los parámetros estudiados, por lo que no puede ser considerado como un aditivo eficaz en las condiciones en las que se realizó este experimento. Es posible que la inclusión de malato en otras raciones y/o a otras dosis pueda producir efectos beneficiosos sobre la fermentación ruminal que se manifiesten en el rendimiento productivo de los animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Carro MD, López S, Valdés C y Ovejero FJ. 1999. Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.

Carro MD y Ranilla MJ. 2003. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *Br. J. Nutr.* 89: 279-288.

López S, Newbold CJ, Tejido ML, Bochi O y Wallace RJ. 1999. Modificación de la fermentación ruminal in vitro por precursores metabólicos de los ácidos grasos volátiles. *ITEA*, Vol. Extra 20. Nº2: 517-519.

Martin SA y Streeter MN. 1995 Effect of malate on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. *J. Anim. Sci.* 73: 2141-2145.

Martin SA, Streeter MN, Nisbet DJ, Hill GM y Williams SE. 1999. Effects of DL-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed a high-concentrate diet. *J. Anim. Sci.* 77: 1008-1015.

Montaño MF, Chai W, Zinn-Ware TE y Zinn RA. 1999. Influence of malic acid supplementation on ruminal pH, lactic acid utilization, and digestive function in steers fed high-concentrate finishing diets. *J. Anim. Sci.* 77: 780-784.

S.A.S.,1989. SAS/STAT Program. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

EFECTOS DEL MALATO (*RUMALATO®*) EN PIENSOS DE ENGORDE DE CORDEROS A BASE DE CEBADA O MAIZ: I. RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS

C. Flores[1], G. Caja[1], R. Romero[1] y J. Mesiá[2].
[1]Grup de Recerca en Remugants. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra; [2]Norel & Nature Nutrición SA, 08185 Lliçà de Vall.

INTRODUCCIÓN

El empleo de altos porcentajes de cereales en la ración de rumiantes es una práctica común en las explotaciones de cebo intensivo. Esto es debido a que son una fuente competitiva de energía, aunque su uso tiene diversas limitaciones. Una de las más importantes es el riesgo de acidosis ruminal por una acumulación excesiva de lactato, lo que puede tener efectos negativos en la producción y estado sanitario de los corderos. Una opción de interés para disminuir los efectos de la acumulación de lactato en el rumen, es la utilización de sales de ácidos orgánicos (fumarato y malato) tal como han indicado Martin (1998), Caja *et al.* (2000) y Garín *et al.* (2001). El malato tiene efectos *in vitro* comparables a los de los ionóforos, disminuyendo el lactato y aumentando el pH y el propionato (Martin, 1998; Carro *et al.*, 2002). El malato podría así sustituir a los antibióticos (monensina, etc..) como aditivo en los piensos de rumiantes de engorde. El malato se encuentra habitualmente en los forrajes, especialmente en las leguminosas, en concentraciones de 1-8% de MS (Callaway *et al.*, 1997).

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la adición de malato, en forma de *Rumalato®* (Norel & Nature Nutrición SA, Madrid), a piensos elaborados con cereales en los rendimientos productivos de corderos en cebo intensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 64 corderos de raza Manchega (n = 24) y Lacaune (n = 40) previamente destetados y adaptados al consumo de pienso durante la fase de cría (5 semanas) en la granja experimental del S1GCE de la Universitat Autònoma de Barcelona. Los corderos se engordaron desde 16-25 kg PV con pienso granulado y paja ad libitum, según un diseño factorial 2 × 2 (cereal × tratamiento). Para ello se formaron 8 grupos equilibrados (según peso inicial, raza y sexo) de 8 animales cada uno. Los tratamientos consistieron en el uso de distintos tipos de pienso, elaborados a base de: C = cebada; CR = cebada con *Rumalato®*; M = maíz; MR = maíz con *Rumalato®*. La composición de los piensos se presenta en la **Tabla 1**.

El PV individual de los corderos y la ingestión de pienso por lote se controlaron semanalmente. Al sacrificio, realizado en grupos semanales una vez que los corderos alcanzaron los 25 kg PV, se midió el pH del líquido ruminal tras 8 h de ayuno y se valoró la apariencia de la mucosa ruminal. Los piensos se analizaron en MS, MO y PB (N × 6.25, Kjeltec Tecator, Hogänäs, Suecia) según AOAC (1990). Para FND y FAD (Van Soest *et al.*, 1991) se usó un equipo ANKOM^{200} (Ankom Technology, Fainport, Nueva York). Los datos obtenidos se procesaron utilizando el procedimiento GLM de SAS (2000).

Tabla 1. Ingredientes y composición (% en MS) de los piensos experimentales.

	Tratamiento			
	C[1]	CR[2]	M[3]	MR[4]
Ingredientes:				
Cebada	66.3	66.3	-	-
Maíz USA	6.0	6.0	60.0	60.0
Mandioca	-	-	6.5	6.5
Gluten feed	8.0	8.0	7.0	7.0
Soja 44	13.4	13.4	16.5	16.5
Cascarilla de soja	2.0	2.0	4.0	4.0
Melaza de caña	-	-	2.1	2.1
Sebo	0.9	0.9	-	-
Urea	0.6	0.6	0.8	0.8
CVM[5]	2.8	2.8	3.0	3.0
Rumalato®[6]	-	0.2	-	0.2
Composición:				
MS	89.3	89.5	87.8	87. 4
PB	18.5	18.2	18.1	18.0
GB	3.1	3.3	3.0	3.0
FB	5.2	5.2	5.2	5.2
FND	15.6	15. 8	12.1	11.8
FAD	6.1	6.5	5.5	5.3
Almidón	40.3	40.3	41.0	41.0
PDIN/E.	111/102	111/102	112/112	112/112
UFC	1.0	1.0	1.0	1.0

[1]Cebada; [2]Cebada + *Rumalato*®; [3]Maíz; [4]Maíz + *Rumalato*®. [5]Corrector vitamínico mineral. [5] Norel & Nature Nutrición S.A., Madrid.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De una forma general y de acuerdo con lo esperado, los piensos a base de maíz presentaron mejores rendimientos productivos en el cebo de los corderos que los de cebada, aunque la diferencia sólo fue significativa en el caso del consumo de pienso que fue mas reducido para el maíz ($P < 0.05$). La adición de *Rumalato*® mejoró la ganancia de peso de los corderos (+14%, $P < 0.05$) y disminuyó el consumo de pienso (-5%), aunque las diferencias sólo fueron significativas ($P < 0.05$) para el caso del pienso maíz (-27%). En consecuencia, el índice de conversión en los piensos con *Rumalato*® fue mas bajo (-18%), y mas alto en los corderos que consumieron cebada sin *Rumalato*® (+24%, $P < 0.01$). El *Rumalato*® no efectó a la edad al sacrificio, aunque éstas fueron mas tempranas (-4 d, $P < 0.12$) al corregir por la diferencia de peso al sacrificio.

El pH del líquido ruminal de los corderos al sacrificio también se vió afectado por la adición de *Rumalato*® al pienso, siendo mas alto en los animales que consumieron *Rumalato*® ($P < 0.05$). El pH del rumen se correspondió con las observaciones del estado de la mucosa ruminal, que presentó un color gris mas oscuro y mayor longitud de papilas arborescentes, ambos indicativos de un mayor grado de paraqueratosis ruminal, en los piensos control frente a los que contenían malato. La apariencia de paraqueratosis fue mayor en las raciones a base de maíz frente a las de cebada, pese a las diferencias esperadas en la velocidad de degradación de los almidones.

Tabla 2. Efectos del malato en el pienso de corderos en cebo.

	Tratamiento					Efecto ($P <$)	
Item	C[1]	CR[2]	M[3]	MR[4]	± SEM	Malato	Cereal
PV inicial, kg	16.4	16.3	16.4	16.4	0.2	0.943	0.943
PV final, kg	25.1	25.9	25.1	26.1	0.2	0.139	0.793
ADP[5], g/d	259[b]	330[a]	299[ab]	307[ab]	9	0.013	0.616
Pienso, kgMS/d	0.95[a]	0.92[a]	0.91[a]	0.84[b]	0.02	0.007	0.047
IC, kgMS/kgPV	3.8[a]	2.9[b]	3.3[b]	2.9[b]	0.1	0.002	0.240
Edad, d	34	30	31	31	1	0.697	0.611
Edad a PV cte., d	34	28	31	29	1	0.120	0.762
pH ruminal[7]	6.87[b]	7.05[ab]	6.93[ab]	7.13[a]	0.04	0.017	0.320
Mucosa ruminal	Gris	Blanca	Gris	Blanca	-	-	-

[1]Cebada; [2]Cebada + *Rumalato*®; [3]Maíz; [4]Maíz + *Rumalato*®; [5]Aumento diario de peso; [6]Índice de conversión. [7]al sacrificio.

Los resultados aquí obtenidos en ovino concuerdan con lo señalado por otros autores al adicionar malato o ácido málico a la ración de bovinos. Así, Streeter *et al.* (1994) observaron mejoras en el ADP (+9%) y la conversión alimenticia (-8%) en terneros alimentados con raciones a base de maíz aplastado. Análogamente, Martin (1998) en un experimento con terneros alimentados con una mezcla de cereales aplastados (75% maíz y 25% trigo), el malato mejoró el ADP (+9%) y la conversión alimenticia (-8%).

Respecto al pH ruminal, nuestros resultados también concuerdan con los aumentos de pH obtenidos por Martín y Streeter (1995) y Montaño *et al.* (1999) en terneros al adicionar malato a raciones basadas en cebada (77-81%). Los ácidos orgánicos actúan sobre el pH ruminal por un doble mecanismo, ya sea aumentando la utilización del lactato (Martin, 1998) o la producción de CO2 por medio de la estimulación de la actividad de *Selenomonas ruminantium* (Callaway y Martin, 1996).

En conclusión, se recomienda el empleo de *Rumalato*® como alternativa al uso de otros aditivos en el pienso de corderos en cebo intensivo, así como profundizar en el estudio de los efectos de los ácidos orgánicos en rumiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Association of Official Analytical Chemists. 1995. 16th ed., AOAC, Arlington, Virginia.

Caja G., Garín D., Mesià J. 2000. Feed Int., Aug.: 23-25.

Carro M.D., López S., Valdés C., Ovejero F.J. 1999. Anim. Feed Sci. Tech. 79:279-288.

Callaway T.R., Martin S.A. 1996. J. Anim. Sci. 74:1982-1989.

Callaway T.R., Martin S.A., Wampler J.L., Hill N.S., Hill G.M. 1997. J. Dairy. Sci. 80:1651-1655.

Garín D., Caja G., Mesià J. 2001. Options méditerranéennes, cahiers, 54:181-184.

Martin S.A. 1998. J. Anim. Sci. 76:3123-3232.

Martin S.A., Streeter M.N. 1995. J. Anim. Sci. 73:2141-2145.

Montaño F.M., Chai W., Zinn-Ware T.E., Zinn R.A. 1999. J. Anim. Sci. 77:780-784.

SAS. 2000. SAS User's Guide, v. 8.1. Institute Inc., Cary, NC, USA.

Streeter M.N., Nisbet D.J., Martin S.A., Williams S.E. 1994. J. Anim. Sci. 72 (Suppl. 1): 384 (Abstr.).

Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE BICARBONATO SÓDICO EN LA RACIÓN DE CORDEROS EN LA FASE DE CEBO

R. Bodas[1,2], A.R. Mantecón[1], P. Frutos[1], S. López[2], F.J. Giráldez[1]
[1]Estación Agrícola Experimental (CSIC) Aptdo. 788 – 24080 León
[2]Departamento de Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León

INTRODUCCIÓN

En condiciones de cebo intensivo los corderos consumen fundamentalmente pienso, cuyo principal ingrediente es el grano de cereal. Éste posee un elevado contenido en almidón que fermenta muy rápido en el rumen y, consumido en grandes cantidades, puede ocasionar problemas de acidosis y ruminitis. Ello se debe a que la tasa de producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y lactato excede la de su absorción, acumulándose en el medio ruminal y provocando un descenso del pH y un aumento de la presión osmótica (Krehbiel *et al.*, 1995; Owens *et al.*, 1998).

La saliva aporta compuestos con cierto poder amortiguador (e.g. bicarbonato), pero la secreción de la misma disminuye, en términos relativos, a medida que se incrementa la proporción de concentrado en la dieta. El bicarbonato también se puede difundir desde la sangre, intercambiándose con AGV en la pared ruminal. No obstante, la cantidad total de bicarbonato puede no llegar a ser suficiente para compensar la acidosis ruminal que se instaurará progresivamente. Ésta repercutirá negativamente en el rendimiento productivo (reducción de la ingestión, disminución de la digestibilidad), pudiendo dar lugar a trastornos más severos (paraqueratosis, úlceras en el rumen, abscesos hepáticos, laminitis, etc.) (Owens *et al.*, 1998). Se han utilizado diferentes tipos de aditivos para paliar los efectos negativos asociados al elevado consumo de cereales, aunque en la actualidad está prohibido el empleo de muchos de ellos (tilosina, viriginiamicina, etc.). Esto ha dado lugar a un esfuerzo en la búsqueda de aditivos naturales alternativos y a un incremento en el empleo de aquellos conocidos y permitidos, entre ellos el bicarbonato de sodio.

El objetivo de este trabajo fue estudiar, en corderos durante el periodo de cebo, el efecto de diferentes niveles de inclusión de bicarbonato de sodio en el pienso sobre el consumo de alimento, la ganancia diaria de peso y el índice de conversión.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este experimento se utilizaron 40 corderos de raza merina (15,7±0,40 kg PV). Los animales permanecieron alojados durante todo el periodo experimental en jaulas individuales de 1m^2 de superficie y dispusieron de agua a voluntad. Los corderos se distribuyeron en 5 grupos, equilibrados en función del peso vivo, cada uno de los cuales recibió, a voluntad, paja de cebada y un pienso de cebo con diferente proporción de bicarbonato sódico (proporcionado por SOLVAY QUÍMICA, S.L., calidad BICAR® Z): 0% (grupo control, B0), 1% (grupo B1), 2% (grupo B2), 3% (grupo B3) y 4% (grupo B4). La administración del alimento se hizo una sola vez, a primera hora de la mañana, una vez retirados los restos del día anterior, y la oferta diaria de pienso se calculó para permitir unos restos del 20% del alimento ofrecido. Se tomaron muestras, tanto del alimento ofrecido como de los restos, para determinar su contenido de materia seca. Los animales se pesaron dos veces por semana durante el desarrollo del experimento. Asimismo, los días 1 y 45 del periodo experimental se tomaron muestras de sangre mediante venopunción en la yugular para el estudio de parámetros relacionados con el estado ácido-base de los animales. La extracción de sangre se realizó antes de la administración de la comida

de la mañana, trasladando las muestras inmediatamente al laboratorio para su análisis.

El periodo experimental tuvo una duración de 45 días, transcurridos los cuales todos los animales fueron trasladados a un matadero comercial, donde se sacrificaron según la normativa vigente y dentro de las 3 horas siguientes al control de peso realizado ese mismo día. Tras el sacrificio y tras 24 horas en cámara de oreo a 4ºC se registró el peso de la canal caliente, para estimar las pérdidas por oreo. Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los datos de ingestión de pienso y de paja para los diferentes grupos experimentales. Aunque la variabilidad entre animales no permitió encontrar diferencias estadísticamente significativas, al realizar el contraste entre el grupo control y los 3 niveles más elevados de inclusión de bicarbonato de sodio se puede apreciar que, tanto el consumo de pienso como el total de alimento se incrementa significativamente ($p<0,05$) en los animales que consumieron pienso con bicarbonato sódico.

Tabla 1. Valores medios del consumo pienso, paja y MS total (pienso+paja), expresados en g MS·animal^{-1}·día^{-1}, correspondientes a cada grupo experimental.

	Tratamiento							
	B0	B1	B2	B3	B4	eed[1]	P[2]	P[3]
Pienso	798	765	871	862	872	51,3	ns	*
Paja	34	45	28	35	25	10,0	ns	ns
Paja + Pienso	832	811	900	897	898	49,2	ns	*

[1] Error estándar de la diferencia.
[2] Nivel de significación para la comparación de todos los tratamientos entre si: ns=p>0,1.
[3] Nivel de significación para la comparación de B0 vs (B2+B3+B4): ns=p>0,1; *=p<0,05.

Al igual que sucedió con la ingestión, debido a la elevada variación individual, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales en la ganancia diaria de peso (GDP) ni en el índice de conversión (IC) (Tabla 2). Sin embargo, cuando se contrastan los 3 niveles más elevados de inclusión de bicarbonato sódico (B2, B3 y B4) frente al grupo control (B0) se observó una tendencia a la significación ($p<0,10$), siendo la GDP en torno a un 9% menor en los animales del grupo control. Estas diferencias en la ingestión y en la GDP se tradujeron, como se puede observar en la Tabla 3, en un aumento del peso de la canal de los animales de los grupos B2, B3 y B4, respecto al grupo control. Cabe señalar, sin embargo, que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,10$) en la conformación ni en el grado de engrasamiento.

Tabla 2. Valores medios de la ganancia diaria de peso (GDP, kg·animal^{-1}) y del índice de conversión (IC, g MS·g GDP^{-1}), calculados por regresión entre, correspondientes a cada grupo experimental.

	Tratamiento							
	B0	B1	B2	B3	B4	eed[1]	P[2]	P[3]
GDP	244	239	276	258	265	18,0	ns	†
IC	3,5	3,4	3,3	3,5	3,4	0,17	ns	ns

[1] Error estándar de la diferencia.
[2] Nivel de significación para la comparación de todos los tratamientos entre si: ns=p>0,1.
[3] Nivel de significación para la comparación de B0 vs (B2+B3+B4): ns=p>0,1;†=p<0,1.

Respecto a los parámetros sanguíneos indicativos del estado ácido-base de los animales, cabe indicar, en primer lugar que el pH sanguíneo fue similar en todos

los grupos experimentales y los valores registrados concuerdan con los recogidos en la literatura (Philip & Hidalgo, 1989). La presión de CO_2 y la concentración de bicarbonato varió a lo largo del ensayo, siendo esta evolución diferente en los animales que consumieron pienso con bicarbonato de sodio que en los del grupo control (Figuras 1 y 2). Así, mientras en el grupo control se produjo un ligero incremento en ambos parámetros, en los restantes grupos se produjo, en general, la evolución opuesta.

Tabla 3. Valores medios de los siguientes parámetros de la canal: peso canal fría (PCF, kg), rendimiento comercial (RC, %), estado de conformación (EC) y grado de engrasamiento (GE).

	Tratamiento							
	B0	B1	B2	B3	B4	eed[1]	P[2]	P[3]
PCF	12,4	12,3	13,5	13,3	13,1	0,75	ns	†
RC	46,6	46,8	47,8	47,6	47,6	0,91	ns	ns
EC (puntos 1 a 15)	6,4	6,8	7,0	6,6	6,8	0,67	ns	ns
GE (puntos 1 a 12)	6,6	6,3	7,1	6,0	6,9	0,60	ns	ns

[1] Error estándar de la diferencia.
[2] Nivel de significación para la comparación de todos los tratamientos entre si: ns=p>0,1.
[3] Nivel de significación para la comparación de B0 vs (B2+B3+B4): ns=p>0,1; †=p<0,1.

En situaciones de acidosis ruminal suele producirse un flujo de bicarbonato de sodio desde el plasma hacia el rumen, que suele determinar un descenso en la concentración de bicarbonato y de la presión de CO_2 en sangre. Los resultados obtenidos, por tanto, no concuerdan a priori con esta evolución. No obstante, en los procesos de acidosis tienen lugar cambios patológicos que pueden producir, entre otros fenómenos, variaciones en el volumen sanguíneo y, por ende, variaciones en parámetros relativos, como la concentración de bicarbonato.

Figura 1. Diferencias entre el día 45 y día 1 del experimento, para los valores sanguíneos de presión de CO_2 para cada tratamiento experimental.

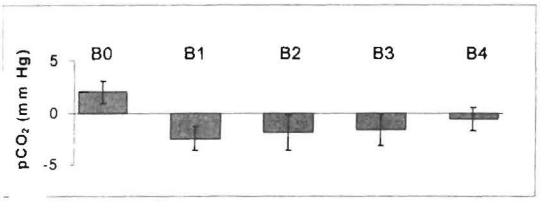
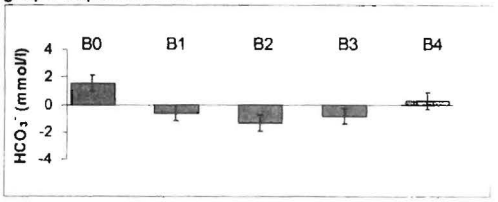


Figura 2. Diferencias entre los días 45 y 1 del experimento, para los valores sanguíneos de concentración de bicarbonato (HCO_3^-) para cada grupo experimental.



Los resultados obtenidos sugieren que la inclusión de bicarbonato de sodio en el pienso permite mejorar el rendimiento productivo de los corderos criados en condiciones de cebo intensivo. Se puede concluir, además, que la dosis óptima parece situarse en torno al 2%, ya que, un nivel de inclusión del 1% resulta insuficiente y la respuesta con niveles del 3 y 4% es similar o ligeramente peor a la obtenida con el 2%.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado a través de un contrato de investigación entre la empresa SOLVAY QUÍMICA, S.L. y el CSIC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Krehbiel, C.R.; Britton, R.A.; Harmon, D.L.; Wester, T.J. & Stock, R.A. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73: 3111-3121.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J. & Gill, D.R. 1998. *J. Anim. Sci.*, 76: 275-286.

Philip, L.E. & Hidalgo, V. 1989. *J. Anim. Sci.*, 67: 2116-2122.

SAS. 1989. SAS/STAT® User's Guide, Version 6 (4th ed.), SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Sistemas Ganaderos-Economía y Gestión

EL GANADO VACUNO DE RAZA PIRENAICA DE LA CAPV. 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS EXPLOTACIONES

Mandaluniz, N.; Amenabar, M.E.; Oregui, L.M.
NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

Uno de los rasgos de las explotaciones de vacas nodrizas de la Cornisa Cantábrica es la baja disponibilidad de terreno, lo que induce a la utilización de pastos comunales de montaña durante una parte del año. Ello podría explicar la persistencia de formas de manejo tradicionales, ligadas a los recursos disponibles y estacionales, lo cual influye en los parámetros productivo-reproductivos (Revilla & Manrique, 1988). En estas circunstancias, teniendo en cuenta el tipo de producción y la utilización de los factores de producción (Reboul, 1976), diversos autores han caracterizado diferentes tipologías de explotación (Sáez *et al.*, 1987; Olaizola, 1991; Manrique *et al.*, 1995; Díez *et al.*, 1997a; Diez *et al.*, 1997b; Serrano *et al.*, 2002). En términos generales, estas explotaciones presentan unos índices productivo-reproductivos bajos, aunque la variabilidad observada es también elevada (Manrique *et al.*, 1992).

El ganado vacuno de raza Pirenaica es una de las razas cárnicas más importantes en la Comunidad Autónoma del País Vasco (CAPV), representando más del 40% del ganado selecto de carne de la CAPV (EHAHE, 2002) y el 18% del censo nacional de la raza. Considerando todo esto, en la presente comunicación se trata de analizar los parámetros que caracterizan a las explotaciones de ganado Pirenaico pertenecientes a las asociaciones de la raza existentes en la CAPV.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó a partir de encuestas realizadas a los técnicos y controladores de las Asociaciones de ganado vacuno de raza Pirenaica, integrados en EPIFE (Federación de raza Pirenaica de la CAPV), durante el año 2000. En ella se recopiló información de 175 explotaciones (93% del total de EPIFE). El objetivo era realizar una descripción general de las explotaciones (fecha de integración en la Asociación, nivel de dedicación de los titulares a la ganadería, etc), así como disponer de una descripción del manejo de los animales (utilización de pastos de montaña, zonas, periodos y tipo de animal que sube, etc), y los calendarios productivos (períodos de parto, edad al destete de los terneros o realización de cebo).

Por otro lado, y para confirmar los datos relativos a la distribución de partos obtenidos en las encuestas, se analizó su distribución entre los años 1990-2000 (n=18404). Los efectos que sobre este parámetro tienen la utilización o no de pastos de montaña, la dedicación del ganadero a la actividad agro-ganadera (parcial o ganadera) y el tamaño de la explotación (1-10, 11-20, 21-30, 31-50 y más de 50 animales) se analizaron mediante el test de X^2, con los datos de los años 1997-2000 (n=8859), más próximos a la fecha de la realización de la encuesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 37% de los titulares tienen dedicación exclusiva al caserío (dedicación exclusiva) mientras que en el 56% compaginan la actividad ganadera con otra actividad fuera del caserío (dedicación parcial). El 7% restante corresponde a ganaderías en las que el titular esta jubilado.

El tamaño medio de las ganaderías, considerando vacas adultas y novillas de reposición, fue similar al descrito por otros autores en explotaciones de zonas de montaña (Olaizola, 1991; Serrano *et al.*, 2002), con una media de 30±43 animales por explotación, aunque se observaron diferencias en función de la dedicación del titular. Así, las ganaderías con titular de dedicación exclusiva fueron las de mayor tamaño, 42±55 cabezas, seguidas por aquellas con titular jubilado, 22±34, siendo las más pequeñas aquellas con dedicación parcial, 17±29 cabezas.

Las explotaciones con dedicación exclusiva tratarían de rentabilizar la actividad con un mayor número de animales, así como combinando con otras actividades ganaderas, equino, ovino o vacuno de leche (Diez *et al.*, 1997a; Serrano *et al.*, 2002; Urarte, 1989).

Según el Informe de la Mesa Técnica de Vacuno (MTV, 2001) el número de cabezas adultas medio de las explotaciones con vacuno de carne de la CAPV se sitúa en 8,1, siendo las explotaciones mejor estructuradas y dinámicas las de mayor tamaño, superior a 30 cabezas. En consecuencia, si bien las ganaderías asociadas de raza Pirenaica tienen un tamaño superior a la media de la CAPV, sólo el grupo de dedicación ganadera dispondría de un número de cabezas similar al de las "mejores" explotaciones.

El 37% de las explotaciones, 55% de los animales, utilizaban los pastos comunales, con una mayor proporción en las explotaciones con dedicación exclusiva (53 vs. 27%). Este hecho podría estar relacionado, tal como ha sido señalado para el ovino (Urarte, 1989), a la escasa disponibilidad de terreno, con una mayor incidencia en las explotaciones de mayor tamaño. Por otro lado, esta utilización de los pastos de montaña no fue uniforme sino que se adapta a las características y objetivos de cada explotación, diferenciando tanto los periodos de utilización, los animales que acceden al monte, los periodos de permanencia en monte, etc.

Los terneros generalmente permanecían con sus madres hasta el destete, el cual se produce entre los 5 y los 7 meses (79%). Una vez destetados, la mayoría de los animales se cebaban en la propia explotación (85%), lo que estaría favorecido por la existencia de un mercado consumidor importante en el entorno, así como por la ausencia de importantes estructuras de cebo.

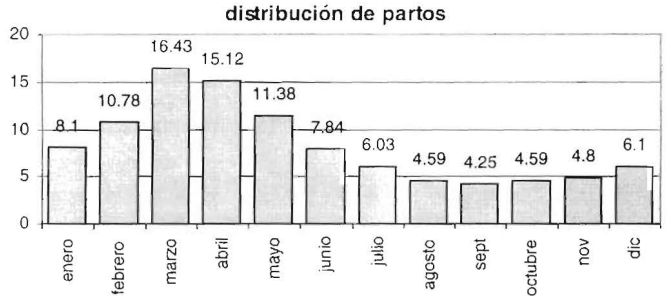


Figura 1. Distribución porcentual de los partos a lo largo del año (EPIFE, 1990-2000).

Según las encuestas realizadas el 64% de las explotaciones presentaron un periodo de partos concentrado en primavera, que se corrobora con la distribución de partos de las bases de datos de EPIFE (Figura 1). De acuerdo con el análisis estadístico realizado, se observa una distribución no homogénea ($p<0,001$), con una mayor frecuencia de partos entre febrero y mayo, con más del 50% del total de

partos. El mejor balance nutritivo, junto con efecto favorable del fotoperíodo en este período del año son los factores que se aducen para explicar la estacionalidad de los partos en los sistemas extensivos (Revilla & Manrique, 1988; Vila & García, 1980).

Esta distribución podría conllevar un desequilibrio en la oferta de animales de abasto a lo largo del año. Sin embargo, de acuerdo con los datos disponibles (MTV, 2001) este desequilibrio no se observa en el número de animales sacrificados mensualmente, pero se traduce en una mayor edad al sacrificio en los meses con menor frecuencia de partos, entre junio y noviembre.

La distribución de partos presentó una tendencia diferente en función de los efectos analizados. La utilización de los pastos afectó de forma significativa ($p<0,05$) a la distribución de los partos con un mayor porcentaje de los mismos en otoño mientras que en los que no subían al monte el porcentaje fue mayor en invierno (Tabla 1). La dedicación del titular presentó una tendencia similar, y estadísticamente significativa ($p<0,001$) debido a un mayor acúmulo de partos en otoño-invierno en las explotaciones ganaderas y en primavera-verano en las parciales. En el caso del tamaño de explotación el efecto fue significativo ($p<0,001$) aunque las tendencias no fueron muy claras. En este sentido las ganaderías de tamaño intermedio presentaron un mayor porcentaje de partos en invierno-primavera mientras que en las grandes esta tendencia era menos marcada debido a un mayor porcentaje de partos durante el verano y otoño. De todas formas, estos efectos exigirían un estudio más concreto del manejo de cada tipo de explotación y de efectos que no han sido considerados en el presente trabajo.

Tabla 1. Distribución porcentual (por estación) de los partos en base al uso de monte, dedicación del ganadero y tamaño de explotación.

		invierno	primavera	verano	Otoño
Uso de monte	**Si**	34,8	32,7	14,8	17,6
	No	37,6	32,4	14,0	16,0
Dedicación	**Ganadero**	36,4	31,6	13,4	18,6
	Parcial	34,6	34,0	16,3	15,1
Tamaño	**1-10**	37,6	34,9	18,4	9,2
	11-20	33,7	40,0	15,7	10,5
	21-30	46,2	29,2	10,6	14,0
	31-50	26,2	32,2	19,1	22,2
	>50	35,9	31,3	13,1	19,7

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente a los técnicos y controladores de las distintas Asociaciones por la colaboración en la realización de las encuestas y a EPIFE por cedernos la información de sus bases de datos, así como al Gobierno Vasco por la dotación de la beca que disfrutó Nerea Mandaluniz.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Diez, A; Manrique, E; Olaizola, A & Bernués, A (1997a). ITEA, vol extra 18:257-259.
Diez, A; Manrique, E; Olaizola, A & Bernués, A (1997b). ITEA, vol extra 18:254-256.
Manrique, E; Revilla, R; Olaizola, A & Bernues, A (1992). Bovis, 46:9-42.
Manrique, E; Olaizola, A & Bernues, A (1995). ITEA, vol extra 16:775-777.
MTV, 2001. Informe de Actividades. Mesa Técnica de Vacuno. 42 pp.
Olaizola, A (1991). Tesis Doctoral, Univ. de Zaragoza, 474 pp.
Reboul, C (1976). Economie Rurale, 112:56-65.
Revilla, R & Manrique, E (1988). Agricultura y Sociedad, 45:138-146.
Saez, E; Manrique, E; Alberti, P; Revilla, R & Muñoz, F (1987). ITEA; vol Extra 7: 405-407.
Serrano, E; Lavín, MP & Ruíz, A (2002). Investigación, Desarrollo e Innovación. CSIC. Ed: Valle de Elsa, SA (León), pp 231.
Urarte, E (1989). Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza.
Vila, F & García JR, (1980). Bovis, nº8, 37-47.

EL GANADO VACUNO DE RAZA PIRENAICA DE LA CAPV. 2. INDICES REPRODUCTIVOS

Mandaluniz, N.; Amenabar, M.E.; Oregui, L.M.
NEIKER-Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

Las explotaciones de ganado vacuno de raza Pirenaica de la CAPV se caracterizan por un tamaño limitado, baja profesionalización y una amplia utilización de los recursos de montaña (Mandaluniz *et al.*, 2003). Estas condiciones son similares a las descritas en otras zonas de la Cornisa Cantábrica y Pirineos donde se observan índices productivo-reproductivos muy variables (Manrique *et al.*, 1992; Osoro, 1986) y , en general, mejorables. De acuerdo a esto, y partiendo de los datos proporcionados por la Federación de vacuno de Raza Pirenaica de la CAPV (EPIFE) se analizaron los principales parámetros reproductivos, edad al primer parto (EPP), intervalo entre partos (IP) y fertilidad (F), y, la influencia que tienen sobre los mismos aspectos como la utilización de los pastos de montaña, la dedicación del ganadero y/o el tamaño de la explotación.

MATERIAL Y MÉTODOS

La información recopilada para la realización del estudio tuvo dos orígenes: (i) encuestas realizadas a los técnicos y controladores de las Asociaciones de ganado vacuno de raza Pirenaica de la CAPV durante el año 2000 (Mandaluniz *et al.*, 2003), y, (ii) la información recogida entre los años 1990-2000 dentro del Plan de Mejora de EPIFE, en especial la del Libro Genealógico y de Partos.

La EPP se calculó como la diferencia entre la fecha del primer parto registrado para cada animal y su fecha de nacimiento. No se consideraron aquellos animales en los que la EPP era superior a 5 años (10%). Estos corresponderían en su mayoría a animales introducidos en las explotaciones ya adultos y de los que se carecía de registros de partos previos.

El IP viene dado por el número medio de días transcurridos entre dos partos consecutivos de un mismo animal. No se tuvieron en cuenta aquellos animales con intervalos inferiores a 300 días o superiores a 1000 días, por considerarlos anómalos. La fertilidad se calculó en base anual y corresponde a la relación entre el número de vacas potencialmente fértiles, mayores de 30 meses, y el número de partos registrados.

Para el estudio de los distintos parámetros se realizó una estadística descriptiva con la información recogida entre los año 1990-2000. Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (SAS, 2001) para los parámetros de EPP e IP y un test de X^2 para la fertilidad, con los datos más próximos a la fecha de la realización de la encuesta (1997-2000). En estos análisis se consideraron como efectos fijos la *utilización del monte*, *dedicación del ganadero* (parcial o excusiva) y *tamaño de la explotación* (1-10, 11-20, 21-30, 31-50 y mas de 50 animales).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La EPP media fue próxima a los 3 años (34,9±7,6 meses), el IP de 14 meses (420,9±72,1 días) y la fertilidad media de 77,1±4,2%. Los estadísticos descriptivos de estos parámetros se detallan en la tabla 1. Los valores medios fueron similares a los descritos en sistemas de vacas nodrizas con un periodo de partos concentrado en primavera (Daza *et al.*, 1989; Manrique *et al.*, 1992; Revilla, *et al.*, 1987). En general fueron inferiores a los descritos en sistemas de dos periodos de partos

(primavera y otoño), con una menor edad al primer parto (2 años y medio) y mejores índices reproductivos derivados de la posibilidad de recuperar los animales con problemas en alguno de los periodos (Osoro & Alenda, 1988).

Tabla 1. Estadísticos descriptivos (media, min., max., cuartiles y moda) de los parámetros EPP, IP y fertilidad (datos de EPIFE, 1990-2000). En el caso de la media se da el número de datos (n).

	EPP (meses)	IP (días)	Fertilidad (%)
Media	35 (n=3978)	421 (n=12740)	77 (n=20122)
Mínimo	24	300	71
Máximo	59	989	83
Q_{25}	29	371	71
Q_{50} (mediana)	34	400,8	76
Q_{75}	38	451,5	80
Moda	36	379	71

El IP medio, 14 meses, fue relativamente elevado lo que podría estar poniendo de manifiesto la existencia de problemas en el manejo general de las explotaciones. No obstante, considerando que una práctica de manejo adecuada sería la eliminación de aquellas hembras que no paren durante dos años seguidos (IP máximo de 750 días), resultaría un IP de 409,3±58,5 días (n=13908), valor similar al descrito en la bibliografía (Sanz, 2000).

La fertilidad fue media (77%), y sobre la misma incidiría de forma importante el IP antes indicado. En este sentido, se observó una relación negativa entre ambos parámetros, resultando en la siguiente ecuación de regresión entre ambos parámetros: Fertilidad%=158-0,186*IP (r=0,46). Esta ecuación, en la que se obtendría una fertilidad de 90% con un IP de 365 días, también refleja que el IP no sería el único elemento que afectaría a la fertilidad. Esta, considerando el método de cálculo empleado se vería afectada negativamente por un retraso en la EPP, y por otros factores ya descritos en la bibliografía como la falta de control reproductivo en un alto porcentaje de explotaciones (Serrano *et al.*, 2002) o la presencia de abortos (Bernués *et al.*, 1995).

En lo que respecta al efecto de las distintas variables consideradas, la EPP se vio significativamente afectada por la *utilización de pastos comunales* ($p<0,01$), la *dedicación del titular* de la explotación ($p<0,001$) y la *interacción tamaño de explotación*dedicación del titular* ($p<0,001$). La EPP fue mayor en las novillas de explotaciones que subían a los pastos comunales (36,7±0,4 *vs.* 35,3±0,3 meses), lo cual vendría explicado por los reducidos crecimientos observados en estos animales durante el período de monte (Mandaluniz *et al.*, 2001). Por otro lado en las explotaciones de dedicación exclusiva, aquellas con más de 50 animales, las novillas presentaron una tendencia a parir a una edad más temprana (Tabla 2). Por el contrario en las de dedicación parcial, en estas mismas explotaciones de mayor tamaño, se observó una mayor EPP, lo que explicaría la interacción ($p<0,001$) existente entre ambos factores. No obstante, en conjunto, los rebaños con dedicación parcial tendieron a una menor EPP (34,8±0,3 vs. 37,3±0,4 meses ($p<0,001$).

El IP se vio afectado significativamente por la *dedicación del titular* ($p<0,05$), *tamaño de la explotación* ($p<0,001$) y su interacción ($p<0,001$). Se observó un menor IP en las explotaciones con dedicación parcial y de tamaño intermedio, entre 20 y 50 animales, mientras que en las de dedicación ganadera, el IP tendió a ser mayor en las de tamaño medio-alto (31-50 cabezas) (Tabla 3). En conjunto, estas diferencias llevan a que el IP sea significativamente ($p<0,01$) más prolongado en las

explotaciones con dedicación ganadera (421,3±2,0 días vs. 419,2±1,4 días) y en aquellas con más de 30 cabezas (Tabla 3).

Tabla 2 Medias de mínimos cuadrados de la EPP (meses) en función de la dedicación de los titulares de la explotación (ganadera/parcial) y el tamaño de explotación.

	Dedicación		
TAMAÑO	**Ganadera**	**Parcial**	**TOTAL**
1-10	$37,4^{abA}$±1,3	$34,6^{bB}$±0,6	36,0±0,7
11-20	$37,5^{abA}$±1,1	$35,1^{bA}$±0,6	36,3±0,6
21-30	$37,9^{bA}$±0,7	$33,4^{bB}$±0,7	35,6±0,5
31-50	$38,4^{bA}$±0,8	$33,7^{bB}$±0,6	36,1±0,5
>50	$35,3^{aA}$±0,3	$37,1^{aB}$±0,6	36,2±0,3
TOTAL	$37,3^{A}$±0,4	$34,8^{B}$±0,3	

Diferentes superíndices indican diferencias significativas (p<0,05). Letras mayúsculas indican diferencias entre filas y minúsculas entre columnas.

Tabla 3 Medias de mínimos cuadrados del IP (días) en función de la dedicación del titular y del tamaño de explotación.

	Dedicación		
TAMAÑO	**Ganadera**	**Parcial**	**TOTAL**
1-10	$407,9^{aA}$±6,3	$415,9^{aA}$±3,1	$411,9^{a}$±3,6
11-20	$409,7^{aA}$±4,7	$423,9^{aB}$±3,0	$416,8^{a}$±2,9
21-30	$421,0^{aA}$±3,6	$402,4^{bB}$±3,1	411,7a±2,4
31-50	$452,7^{bA}$±3,7	$402,7^{bB}$±2,8	427,7b±2,4
>50	$415,3^{aA}$±1,6	$436,2^{cB}$±2,9	425,7b±1,6
TOTAL	421,3a±2,0	416,2b±1,4	

Diferentes superíndices indican diferencias significativas (p<0,05). Letras mayúsculas indican diferencias entre filas y minúsculas entre columnas.

La fertilidad se vio afectada significativamente (p<0,001) por la *dedicación del titular* y el *tamaño de explotación* (p<0,01). La fertilidad fue menor en las explotaciones ganaderas (81,5 % vs. 85,3%) y en aquellas con un número de animales extremo, menos de 10 o más de 50 cabezas, que presentaron valores similares entre sí (82,52% y, 82,45% respectivamente) e inferiores (p<0,05) al resto (85,50%, 84,10%, 86,90% en las explotaciones de 11-20, 21-30, 31-50 animales, respectivamente).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos especialmente la colaboración de los técnicos y controladores de las distintas Asociaciones por la colaboración en la realización de las encuestas y a EPIFE por cedernos la información de sus bases de datos, así como al Gobierno Vasco por la dotación de la beca que disfrutó Nerea Mandaluniz.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bernués, A; Maza, MT & Manrique, E (1995). ITEA, vol extra 16: 512-514.

Daza, A; Ovejero, I; Pérez-Guzmán, MD; Blanco, PJ & Buxade, C (1989). ITEA, vol Extra 9:277-279.

Mandaluniz, N & Oregui, LM (2001). ITEA, Vol. Extra 22 (2):445-447.

Mandaluniz, N; Amenabar, ME & Oregui, LM (2003). ITEA .

Manrique, E; Revilla, R; Olaizola, A & Bernues, A (1992). Bovis, 46:9-42.

Osoro, K (1986). Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim., 1:1-2.

Osoro, K & Alenda, R (1988). Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim., 3 (2-3):155-195.

Revilla, R; Alberti, P; Folch, J; Manrique, E & Díez, E (1987). ITEA, vol Extra 7:322-324.

Sanz, A (2000).Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, pp. 224.

SAS (2001). SAS/Stat User's Guide, Cary, NC, USA

Serrano, E; Lavín, MP & Ruiz, A (2002). Investigación, Desarrollo e Innovación. CSIC. Ed: Valles del Esla, SA (León), pp 231.

TIPOLOGÍA DE LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO EN EL MAESTRAZGO TUROLENSE

Flores N.[1], Nuez T.[2], Rodriguez J.[3] Y Delgado I.[1]
[1]Unidad de Tecnología en Producción Animal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria, DGA. Apdo. 727, 50080 Zaragoza
[2]Oficina Comarcal Agroambiental de Cantavieja (Teruel)
[3]Oficina Comarcal Agroambiental de Mora de Rubielos (Teruel)

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos treinta años se han producido profundos cambios en el medio rural y, en especial, en las áreas de montaña, que afectan a las actividades productivas que allí se desarrollan. Uno de los cambios ha sido el tipo de orientación ganadera. La cabaña ganadera del vacuno ha aumentado su importancia relativa en las últimas décadas en la comarca respecto a la ganadería del ovino debido a los cambios poblacionales de mano de obra y a las ayudas concedidas a este sector por la PAC. En el presente trabajo se estudian, mediante encuestas directas, las características de las explotaciones ganaderas de vacuno de la comarca Gúdar-Maestrazgo y su utilización del territorio por dicha cabaña ganadera.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron 22 encuestas a los ganaderos de vacuno de las serranías de Gúdar – Maestrazgo, durante el período 1999 –2000. Se obtuvieron datos referentes al censo, la tenencia de la tierra, la utilización del territorio, las características de la alimentación y el manejo del ganado. Otras fuentes de información utilizadas fueron las estadísticas agrarias del INE (1984 y 1991) y de la DGA (DGA,1998), Tremul (1997) y un informe sobre la ganadería del vacuno de carne realizado en 1980 por la OCA de Mora de Rubielos (inédito).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Evolución de la cabaña ganadera de vacuno en el período 1982 – 1998

Según los censos agrarios del INE (1984), de 3406 UGM de ganado vacuno, que existían en los municipios de las serranías de Gúdar – Maestrazgo en 1982, se ha pasado a 6586,7 UGM en 1998 (DGA,1998) con un aumento de casi el 50% durante este período de tiempo. El número de explotaciones existentes en la comarca ascendía a 250 con 2747 vacas reproductoras, en 1980, según los datos aportados en el informe proporcionado por la OCA de Mora de Rubielos (inédito). Dicho número de explotaciones se redujo a 204 en 1998, pero el censo se incrementó en 6276 vacas reproductoras, lo cual muestra la apuesta que se está haciendo en las zonas de montaña por este tipo de ganadería extensiva basada en la venta de terneros para el cebo.

Estructura de la cabaña ganadera del vacuno

La Tabla 1 refleja que el número de vacas por explotación es alto, 31,1 vacas por explotación, si se compara con la media nacional que se sitúa en 15 vacas, según Tremul (1997). Su distribución por explotaciones se presenta en la Tabla 2, según los datos proporcionados por las OCAs en 1999. Así pues, las explotaciones con más de 20 cabezas son las que predominan con el 64,4%. El censo en las explotaciones encuestadas fue, sin embargo, mayor, de 63,2 vacas por explotación, según se muestra en la Tabla 3. Ello se atribuyó a que la orientación principal de las

explotaciones encuestadas era la cría de ganado vacuno, cuando en la comarca dominan las explotaciones mixtas con ovino y caprino (Flores *et al*, 2002).

Tabla 1. Tipología de las explotaciones de ganado vacuno (Tremul,1997)

NÚMERO DE EXPLOTACIONES Y TAMAÑO			
ZONA VETERINARIA	Nº DE EXPLOTACIONES	Nº DE VACAS REPRODUCTORAS	Nº DE VACAS/ EXPLOTACIÓN
Cantavieja	108	3426	31,7
Cedrillas	58	1562	26,9
Mosqueruela	38	1354	35,6
TOTAL	**204**	**6342**	**31,1**

Tabla 2.Tamaño de las explotaciones de vacuno (cabezas) en la comarca de las serranías de Gúdar – Maestrazgo en 1999.

Nº de explotaciones	Hasta 20	20 – 45	45-60	60 –90	+90
204	35,6%	36,8%	13,2%	9,2%	5,2%

Respecto a la composición de la cabaña ganadera, las encuestas realizadas reflejaron que el 69,1% está compuesto por vacas nodrizas, el 8,7% serían animales de reposición y el 22,1% terneros (Tabla 3).

Tabla 3. Composición de la cabaña ganadera de vacuno en las explotaciones de las serranías de Gúdar – Maestrazgo en 2000.

	Media	%
Cabezas de bovino por explotación	63,2	100
Terneros	14,0	22,1
Reposición	5,5	8,7
Nodrizas	43,7	69,1

Las características de la tierra

La superficie media utilizada en las explotaciones encuestadas de las serranías de Gúdar – Maestrazgo es de 223,3 ha por explotación, de las cuales 176,4 ha son pastos naturales. La densidad de ganado, en la explotación media, es de 0,3 vacas/ha. Si se agrupan las explotaciones según la superficie, se observa que todas poseen más de 51ha; tres de ellas se encuentran entre 51 – 100 ha, cinco entre 101 – 200 ha y 14 con más de 200 ha. La tenencia de la tierra es principalmente privada siendo el porcentaje de tierras comunales bastante reducido. Las encuestas reflejaron que el 94 % de las tierras sobre las que pastorea el ganado vacuno son arrendadas por el ganadero y únicamente un 6% se encuentran explotadas en régimen de propiedad.

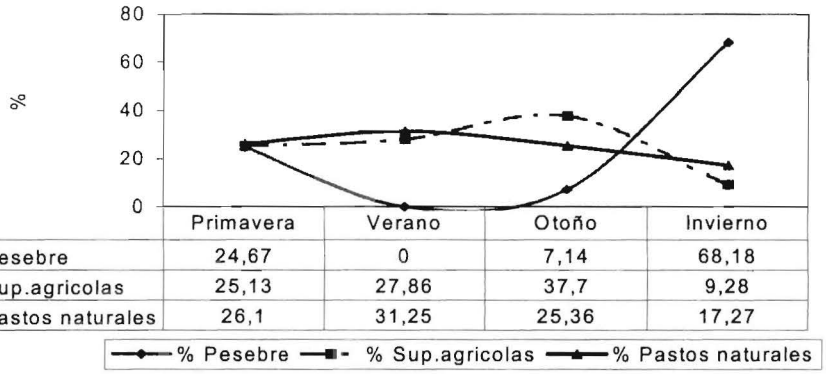
La alimentación y la utilización del territorio por la ganadería vacuna

La alimentación de la ganadería extensiva se realiza por tres vías diferentes en estas serranías, las cuales se encuentran directamente relacionadas con la época del año y las condiciones meteorológicas. La alimentación puede llevarse a cabo mediante suministro en pesebre, pastoreo sobre superficies agrícolas y pastoreo sobre superficies naturales. Su distribución, según los datos de las encuestas, se muestra en la Figura 1. Durante la primavera los ganaderos encuestados adoptan una combinación de los tres tipos de alimentación, es decir,

combinan el pastoreo sobre superficies agrícolas cercanas a los establos o locales en los que generalmente se guardan, utilizan igualmente las zonas de vegetación natural cercanas a la explotación y suplementan la alimentación en pesebre, ya que son épocas en que las necesidades forrajeras del ganado son mayores. Durante el verano, las condiciones meteorológicas mejoran y hay un aumento de los recursos pastables, por lo que el ganado puede pastar libremente en el monte y utilizar las rastrojeras, por lo que la suplementación de la alimentación en pesebre no es necesaria.

En otoño, el ganado sigue alimentándose sobre pastos naturales aunque, conforme se acerca la estación invernal, comienza de nuevo a ser necesaria la alimentación en pesebre. Por último, en invierno, debido a las condiciones climatológicas y a la disminución de los recursos pastables, el ganado se ve obligado a permanecer estabulado y por consiguiente a la alimentación en pesebre. Un porcentaje reducido de ganaderos aprovecha los días invernales más favorables meteorológicamente, es decir, sin nieves y sin hielo, y saca el ganado a pastar por las superficies agrícolas y pastos naturales cercanos a las masías y establos. Este período no suele sobrepasar el mes.

Figura 1. Distribución y características de la alimentación del ganado vacuno.



	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
% Pesebre	24,67	0	7,14	68,18
% Sup.agricolas	25,13	27,86	37,7	9,28
% Pastos naturales	26,1	31,25	25,36	17,27

CONCLUSIONES

En el período 1982 – 1998 se ha producido un incremento de la ganadería de vacuno con un aumento de la cabaña ganadera y del tamaño de las explotaciones del 50%. La tenencia de la tierra es, en un alto porcentaje, en arrendamiento. El ganado se alimenta sobre la base de recursos agrícolas y pastos naturales, salvo en invierno que permanece estabulado prácticamente durante toda la estación.

BIBLIOGRAFÍA

DGA, 1998. Estadística agraria de Aragón.

FLORES N., NUEZ T., RODRÍGUEZ J., DELGADO I., 2002. Tipología de las explotaciones ovinas en el Maestrazgo turolense. En: Producción ovina y caprina, Nº XXVII SEOC, 844-849.

INE, 1984.Censo Agrario de España 1982, Madrid.

INE, 1991.Censo agrario de 1989, Madrid.

TREMUL C., 1997. El vacuno impulsa el desarrollo rural del Maestrazgo. Surcos, 20 – 23.

EVOLUCIÓN DE LOS CENSOS GANADEROS Y CARACTERÍSTICAS DE LAS EXPLOTACIONES DE GANADO VACUNO DE LA MONTAÑA DE LEÓN

E. Serrano, P. Lavín, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788 24080 León.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, muchas zonas catalogadas como desfavorecidas, entre ellas la montaña de León, han experimentado cambios en la utilización de sus recursos, que han dado lugar, frecuentemente, a importantes procesos de deterioro ambiental. En las zonas de montaña estos cambios se relacionan, con frecuencia, con modificaciones de los sistemas ganaderos tradicionales (Ortuño y Zamora, 2001).

El ganado vacuno es el que presenta una mayor importancia cuantitativa dentro de las especies de herbívoros domésticos explotados en la montaña de León y su explotación ha jugado un papel esencial en el modelado de muchos de los valores ecológicos y paisajísticos de esta zona.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, el objetivo de este trabajo es analizar la evolución de los censos de ganado vacuno de la montaña de León en la última década y las características de las explotaciones, con la finalidad de establecer una relación que contribuya a la comprensión de las transformaciones observadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los censos de ganado y explotaciones de las dos comarcas que componen la montaña de León (Montaña de Luna y Montaña de Riaño) proceden del Servicio de Estadística y Estructuras Agrarias de la Junta de Castilla y León. Los animales incluidos en el censo de ganado son los bovinos mayores de 6 semanas no destinados a cebo.

Los datos relativos a las características de las explotaciones fueron obtenidos mediante la realización de encuestas y corresponden al año 1998. Todas las explotaciones estudiadas pertenecen a la comarca de Montaña de Riaño y están integradas en un núcleo de productores de carne de vacuno. Aunque el número total de explotaciones encuestadas fue de 47, la información analizada en este trabajo procede únicamente de 35 explotaciones, cuya información fue considerada válida.

Como parámetros descriptivos de la estructura de la base animal de las explotaciones, se consideraron: número de vacas reproductoras, número de reproductoras manejadas por UTA (UTA -Unidad de Trabajo Agrario-: trabajo efectuado por una persona dedicada a tiempo completo durante un año a la actividad agraria), % de vacas nodrizas (vacas con derecho a prima por vaca nodriza), variación en el número de reproductoras de las explotaciones a lo largo del año de estudio y composición racial del censo de reproductoras. Como parámetro descriptivo de la rentabilidad económica de las explotaciones se consideró el Margen Bruto, entendido como la diferencia entre ingresos totales y gastos en materias primas, productos intermedios, energía, servicios y mano de obra.

Las explotaciones se clasificaron en tres grupos identificados como: orientación productiva ***mixta*** (combinan el amamantamiento del ternero y el ordeño en todas las vacas), ***leche-carne*** (cuentan con dos rebaños diferenciados, uno de orientación productiva carne y otro de leche) y ***carne*** (producen sólo carne). Estos tres grupos se compararon mediante la realización de un análisis de la varianza, utilizando el procedimiento GLM del programa informático SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los censos de ganado vacuno se incrementaron en las comarcas de Montaña de Luna y Montaña de Riaño, en un 25,4 y un 49,8 %, respectivamente, entre los años

1989 y 2000. En el mismo periodo (parte inferior de la Tabla 1) el número de explotaciones de ganado vacuno sufrió una evolución inversa: en la comarca de Montaña de Luna se redujo, aproximadamente, en un 45% y en la de Montaña de Riaño en un 48 %. Como es lógico, dada la evolución del censo de ganado y de explotaciones, el número medio de cabezas por explotación se incrementó (casi un 130% en Montaña de Luna y casi un 190% en Montaña de Riaño).

La información expuesta hasta este punto, puede ser matizada teniendo en cuenta la orientación productiva de los animales. En la parte superior de la Tabla 1 se observa que el censo de ganado vacuno de ordeño (orientación productiva leche o mixta) se redujo en ambas comarcas y que el censo de ganado vacuno de no ordeño (orientación productiva carne) se incrementó espectacularmente.

Tabla 1: Evolución de los censos de ganado vacuno, del numero de explotaciones y del tamaño medio de las mismas (cabezas/explotación) en la montaña de León en el periodo 1989-2000.

	Ganado de ordeño			Ganado de no ordeño		
	1989	2000	variación (%)	1989	2000	Variación (%)
Montaña de Luna	14.413	5.671	-60,7	370	12.864	3.376,8
Montaña de Riaño	16.135	9.234	-42,8	275	15.350	5.481,8
	Nº de explotaciones			cabezas/explotación		
	1989	2000	variación (%)	1989	2000	Variación (%)
Montaña de Luna	1.757	965	-45,1	8,4	19,2	128,7
Montaña de Riaño	1.837	956	-48,0	8,9	25,7	188,9

En la Tabla 2 se recoge información referida al tamaño y estructura del rebaño de reproductoras con que cuentan las explotaciones. La variación en el número de reproductoras por explotación fue muy amplia. Parte de esa variación puede ser explicada en función de la orientación productiva de las explotaciones (p=0,281). El número medio de reproductoras por explotación fue superior en el grupo *carne* que en el grupo *mixta*. El grupo de *leche-carne* ocupó una situación intermedia a los dos anteriores, pero más próxima a las explotaciones del grupo carne. Tanto la variable *reproductoras/UTA*, como la variable *% de nodrizas*, variaron en función de la orientación productiva de las explotaciones (p=0,0044 y p=0,0005, respectivamente). El valor medio de ambas variables fue superior en el grupo de orientación productiva *carne* que en los otros dos grupos considerados.

Tabla 2: Tamaño y estructura del rebaño de reproductoras.

	ORIENTACION PRODUCTIVA			
	Mixta	Leche-carne	Carne	P
reproductoras/explotación	27,67 ± 2,539	36,27 ± 6,800	41,27 ± 5,152	p=0,2391
reproductoras/UTAbovino	16,81 ± 2,218	19,00 ± 3,365	35,18 ± 4,734	p=0,0044
nodrizas (%)	44,84 ± 3,837	48,30 ± 7,166	74,38 ± 4,423	p=0,0005

De las 35 explotaciones estudiadas, en 1 se mantuvo estable el censo de reproductoras, en 27 se incrementó y en 7 disminuyó. Esta información indica una tendencia a incrementar el tamaño de las explotaciones que coincide con la ya comentada para el conjunto de la comarca. En los tres grupos de orientación productiva considerados, *mixta*, *leche-carne* y *carne*, el incremento medio fue de 2,8 ± 1,56; 4,0 ± 1,36 y 4,5 ± 0,96 cabezas/explotación, respectivamente.

En la Tabla 3 se recoge la composición racial del censo de reproductoras. El análisis de esta información revela la existencia de una gran heterogeneidad racial en el censo de reproductoras y que ésta es superior en el grupo de orientación productiva *carne*. De las 15 explotaciones incluidas en el grupo *carne*, sólo 1 explotación (7%) contaba con un único tipo de reproductoras, 2 (13%) con dos tipos, 8 (53%) con tres tipos y 4 (27%) con cuatro tipos.

Tabla 3: Composición racial del censo de reproductoras (%).

	ORIENTACION PRODUCTIVA		
	Mixta	**Leche-carne**	**Carne**
Parda	95,07	68,09	27,72
Limusín	0,00	2,90	18,36
Asturiana / Charolesa	0,85	2,54	7,81
Frisona	0,00	6,20	2,96
Parda x Limusín	1,87	9,44	29,24
Parda x Carne	1,81	6,80	4,01
Otras razas	0,00	0,19	0,00
Otros cruces	0,40	3,84	9,90

Las tres orientaciones productivas presentaron, pese a las diferencias en el número de reproductoras por explotación, unos beneficios brutos medios anuales por explotación, similares (Tabla 4). Sí se observa un efecto claro del factor orientación productiva cuando los beneficios anuales de las explotaciones se expresan en función del número de reproductoras. El valor medio más bajo de la variable *Margen Bruto anual por reproductora* correspondió a las explotaciones del grupo *carne* y el más alto a las explotaciones del grupo *mixta*. Cuando los beneficios brutos anuales de las explotaciones se expresan en función del número de unidades de mano de obra, las diferencias entre orientaciones productivas se atenúan. Se puede destacar, sin embargo, que, pese a las diferencias en los beneficios por reproductora, el valor medio más alto correspondió al grupo *carne* y el más bajo al grupo *mixta*.

En la Tabla 4 se puede observar, también, que la orientación productiva puede ser considerada un factor diferenciador en la importancia relativa de los ingresos por subvenciones en los beneficios brutos de las explotaciones. En el grupo *carne* el porcentaje medio que supusieron los ingresos por subvenciones sobre los beneficios brutos de la explotación fue superior a los de los grupos *mixta* y *leche-carne*.

Tabla 4: Rentabilidad económica (Margen Bruto) de las explotaciones.

	ORIENTACION PRODUCTIVA			
	Mixta	**Leche-carne**	**Carne**	**P**
euros x explotación^{-1} x año^{-1}	19.069 ± 3.350,6	23.192 ± 7.598,9	20.100 ± 3.018,3	p=0,8431
euros x reproductora^{-1} x año^{-1}	692 ± 102,6	570 ± 61,5	481 ± 41,2	p=0,0884
euros x UTA^{-1} x año^{-1}	11.306 ± 1.732,5	12.274 ± 3.777,3	16.431 ± 2.153,7	p=0,3532
ingresos por subvenciones/ Margen Bruto(%)	25,48 ± 3,376	27,77 ± 4,533	45,09 ± 3,393	p=0,0011

A modo de conclusión, se puede decir que el sistema tradicional mixto de explotación del ganado vacuno en la montaña de León, basado mayoritariamente en la raza parda, tiende a ser sustituido por sistemas orientados hacia la producción de terneros de carne, con una gran heterogeneidad racial, tanto considerando el censo global como las explotaciones individualmente, y en los que los menores beneficios obtenidos por reproductora se compensan con un mayor número de reproductoras manejadas por unidad de mano de obra y con unos mayores ingresos por subvenciones.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto CICYT-Feder IFD1997-0776 y del contrato de investigación entre el CSIC y la empresa "Nucleo de Explotaciones Agropecuarias de León, NEAL, S.A.".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ORTUÑO, S. y ZAMORA, R. (2001). Las áreas de montaña y los nuevos modelos de desarrollo rural. *Estudios Agro-Sociales y Pesqueros*, 191: 41-60.

SAS. 1989. SAS/STAT®User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.) SAS Inst.Inc., Cary, NC.

TIPOLOGÍA DE EXPLOTACIONES DE GANADO VACUNO DE LA MONTAÑA DE LEÓN

E. Serrano[1], A. Bernués[2], F.J. Giráldez[1], P. Lavín[1] y A. R. Mantecón[1]
[1]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788 24080 León.
[2]SIA-Gobierno de Aragón. Apdo. 727 50080 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El objetivo general de la elaboración de tipologías es la identificación de grupos con características comunes, para poder establecer comparaciones, juicios de funcionamiento y elaborar recomendaciones adaptadas a cada explotación y extrapolables a otras explotaciones. En el caso concreto de este trabajo, el objetivo fue, además, clasificar un grupo de explotaciones representativas de los sistemas de producción de vacuno de la montaña de León, considerándolas como *sistemas de producción* (en función de aspectos técnicos, económicos y productivos), (Manrique et al., 1994) utilizando técnicas estadísticas multivariantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

La información se obtuvo mediante la realización de encuestas en las explotaciones y corresponde a los años 1996, 1997 y 1998. Todas las explotaciones estudiadas están situadas en la comarca de Montaña de Riaño (León) y pertenecen a un núcleo de productores de carne de vacuno. El número de explotaciones cuya información se consideró válida, fue de 41, en el año 1996, y de 35, en 1997 y 1998.

Las técnicas estadísticas utilizadas en este trabajo fueron el Análisis de Componentes Principales (ACP) y el Análisis Clúster de Clasificación Jerárquica Ascendente. Para la realización del ACP se utilizaron los procedimientos FACTOR y de rotación VARIMAX del programa estadístico SAS. El Análisis de Clusters se realizó mediante el procedimiento CLUSTER del mismo programa informático, utilizando como variables de clasificación los factores obtenidos en el ACP, como medida de las distancias entre casos la distancia euclídea y como método de agregación el enlace promedio. Los grupos obtenidos se compararon mediante un análisis de la varianza, utilizando el procedimiento GLM del programa informático SAS (SAS, 1989). La información de los tres años se analizó conjuntamente. Para ello cada explotación, en cada año, se consideró como un caso, de forma que el ACP se realizó considerando un total de 111 observaciones. En la Tabla 1 se recogen las 35 variables utilizadas en el ACP.

Tabla 1: Variables consideradas en el ACP.

Mano de Obra	*% de terneros terminados*	*g. mantenimiento/reproductora*
Reproductoras/UTA	*% de terneros cebados*	**Ingresos**
Base animal de la explotación	*terneros vendidos/reproductora*	*Ingresos totales*
reproductoras/explotación	*terneros nacidos/reproductora*	*Ingresos /reproductora*
vacas de ordeño (%)	**Gastos**	*i. terneros/reproductora*
vacas de raza Parda (%)	*Gastos/reproductora*	*i. adultos sacrificio/reproductora*
vacas cruzadas (%)	*g. sanitarios/reproductora*	*i. leche/reproductora*
UGM de otras especies (%)	*g. forrajes/reproductora*	*i. subvenciones/reproductora*
Uso del territorio	*g. concentrados/reproductora*	*i.capitalización terneros/reproductora*
UGM totales/SAU	*g. carburantes/reproductora*	*i. capitalización adultos/reproductora*
Producciones	*g. electricidad/reproductora*	**Beneficios**
litros de leche vendidos/explotación	*g. seguridad social/reproductora*	*i. subvenciones/Margen Bruto (%)*
Diferencia litros vendidos-cuota (%)	*g. ganado reposición/reproductora*	*Margen Bruto/reproductora*
% de terneros pasteros	*g. ganado reventa/reproductora*	*Margen Bruto/UTA*

UTA -Unidad de Trabajo Agrario-: Trabajo realizado a tiempo completo por una persona durante un año.
UGM: Unidades de Ganado Mayor; **SAU**: Superficie Agraria Útil

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se recogen las características de los dos primeros factores seleccionados en el ACP, los cuales fueron utilizados como variables de clasificación en el Análisis de Clústers. En la Tabla 3 se representan los valores medios de las variables más representativas de las características de las explotaciones, para cada uno de los ocho grupos obtenidos en el Análisis de Clusters.

Tabla 2: Características de los dos primeros factores seleccionados en el ACP.

Varianza explicada (%)		Significado del factor	Variables y coeficientes de correlación con el factor			
FACTOR 1	18,9	- Orientación hacia la producción lechera	i.leche/reproductora	0,94	vacas de raza Parda (%)	0,70
		- Intensificación del sistema de producción	Ingresos/reproductora	0,89	g.electricidad/reproductora	0,66
		- Productividad individual por reproductora	vacas de ordeño (%)	0,87	Gastos/reproductora	0,63
			g.concentrados/reproductora	0,77	g. sanitarios/reproductora	0,56
			litros de leche vendidos/explotación	0,75	vacas cruzadas (%)	-0,64
FACTOR 2	12,2	- Productividad del factor trabajo	Margen Bruto/UTA	0,87	reproductoras/UTA	0,73
		- Dimensión de la explotación	reproductoras/explotación	0,87	g.seguridad social/reproductora	-0,55
			Ingresos totales	0,86		

Tabla 3: Características de los grupos de explotaciones obtenidos en el Análisis Clusters.

	Grupo 1 n=4	Grupo 2 n=3	Grupo 3 n=8	Grupo 4 n=25	Grupo 5 n=13	Grupo 6 n=47	Grupo 7 n=7	Grupo 8 n=3	RSD	P
reproductoras/explotación	26,50	89,33	39,13	34,52	24,54	25,62	58,86	76,33	9,503	0,0001
reproductoras/UTA	12,96	89,33	23,51	27,68	21,64	13,48	42,14	38,17	7,982	0,0001
vacas de ordeño (%)	100,00	0,00	50,95	3,58	12,16	64,29	0,00	48,67	21,091	0,0001
vacas con prima por nodriza (%)	38,19	80,06	65,95	81,18	69,56	51,31	92,34	80,29	21,361	0,0001
vacas de raza Parda (%)	100,00	5,73	80,68	31,75	28,68	76,37	25,76	85,67	23,505	0,0001
vacas cruzadas (%)	0,00	82,07	14,64	42,72	27,52	13,86	60,56	14,33	20,237	0,0001
%de terneros pasteros	0,00	44,07	0,99	12,19	4,17	3,08	24,46	0,00	18,323	0,0006
% de terneros terminados	63,69	55,93	72,65	76,12	64,97	65,44	72,80	95,83	33,752	0,7270
litros vendidos/reproductora	4.319	0	1.701	77	344	1.600	0	2.271	624,7	0,0001
Características económicas (euros x año^{-1})										
Gastos/reproductora	797,39	282,53	61,93	307,00	455,87	524,04	252,81	813,28	205,371	0,0001
Ingresos totales	49.846,12	59.440,53	50.572,48	26.990,28	16.791,35	25.069,86	48.197,14	122.196,22	9.307,534	0,0001
Ingresos/reproductora	1.930,57	664,64	1.315,74	794,80	679,99	1.001,50	721,53	1.584,41	216,020	0,0001
Margen Bruto total	29.795,08	33.853,03	28.463,90	16.145,64	6.700,80	12.268,05	32.416,28	61.423,80	8.068,360	0,0001
Margen Bruto/reproductora	1.133,19	382,11	696,43	442,80	224,12	477,45	468,72	771,13	155,862	0,0001
Margen Bruto/UTA	14.604,52	33.853,03	16.507,75	12.587,03	5.449,95	6.527,42	18.212,61	30.711,90	5.334,797	0,0001
i.subvenciones/Margen Bruto (%)	10,31	44,88	30,54	51,00	78,67	8,32	64,40	36,41	149,8	0.8569

RSD: desviación estándar residual.

Tabla 4: Número medio de reproductoras manejadas por unidad de mano de obra y número medio estimado de reproductoras necesario para alcanzar un salario por unidad de mano de obra equivalente al doble del salario mínimo interprofesional del año 1998 para los grupos de explotaciones identificados en el Análisis de Clusters.

	Reproductoras/UTA							
	Grupo 1	**Grupo 2**	**Grupo 3**	**Grupo 4**	**Grupo 5**	**Grupo 6**	**Grupo 7**	**Grupo 8**
Valores reales	**13,0** ± 1,52	**89,3** ± 5,61	**23,5** ± 2,07	**27,7** ± 2,31	**21,6** ± 2,37	**13,5** ± 0,74	**42,1** ± 3,98	**38,2** ± 3,90
Valores estimados*	**8,0** ± 0,35	**24,1** ± 2,12	**14,0** ± 1,69	**21,9** ± 1,30	**50,1** ± 11,34	**23,7** ± 3,53	**24,5** ± 5,87	**12,9** ± 2,88

*Reproductoras necesarias para alcanzar un Margen bruto/UTA=11.452,41 euros;

Según la información recogida en la Tabla 3, 6 de los 8 grupos obtenidos fueron identificados como sigue: **Grupo 1**: Explotaciones orientadas fundamentalmente a la producción de leche; **Grupo 2**: Explotaciones especializadas en la producción de terneros, número de reproductoras por explotación y por UTA elevado; **Grupo 3**: Explotaciones productoras de leche, tamaño medio y porcentaje elevado de reproductoras especializadas en la producción de terneros; **Grupo 4**: Explotaciones especializadas en la producción de terneros, bajo número de reproductoras por explotación y por UTA; **Grupo 6**: Explotaciones mixtas tradicionales (producción de leche y distintos tipos de terneros); **Grupo 7**: Explotaciones especializadas en la producción de terneros, nivel medio de reproductoras por explotación y por UTA.

De los dos grupos restantes, el **Grupo 5** estaría integrado por explotaciones situadas en una etapa de transición entre las explotaciones de menor dimensión de las tipologías que producen leche y las especializadas en la producción de terneros, y el **Grupo 8** sería un subgrupo segregado del Grupo 3 por su gran dimensión.

En la Tabla 4 se comparan, para cada una de las 8 tipologías de explotaciones, el número de reproductoras manejadas por UTA y el número de reproductoras que sería necesario manejar para alcanzar, según los valores medios de rentabilidad por reproductora de cada grupo, un salario equivalente al doble del salario mínimo interprofesional del año 1998.

De los 8 grupos, sólo 2 no alcanzan el nivel de rentabilidad fijado (Grupos 6 y 5). El Grupo 6 es el más representativo del modelo tradicional de explotación del ganado vacuno en la montaña de León. Siguiendo criterios de rentabilidad económica, se podría considerar que de este modelo tradicional derivan dos trayectorias divergentes de evolución de las explotaciones: una, especialización en la producción de leche e intensificación del sistema de producción y, otra, especialización en la producción de carne y extensificación del sistema de producción.

El grupo más representativo de la primera pauta de evolución es el **Grupo 1**. En este grupo, a pesar del incremento en los rendimientos productivos por reproductora, un elevado requerimiento de mano de obra y unos costes elevados, no permiten obtener una rentabilidad elevada ni por explotación ni por trabajador. El **Grupo 2**, es el más representativo de la segunda pauta de evolución. Estas explotaciones productoras únicamente de terneros, obtienen la máxima rentabilidad por trabajador y compensan los malos resultados económicos por reproductora, obtenidos en un sistema muy extensivo, con una gran dimensión de la explotación, con un elevado número de reproductoras por UTA y con unos costes por reproductora muy bajos.

Los resultados obtenidos indican que la evolución reciente del entorno socioeconómico en el que se desenvuelven los sistemas de producción de vacuno en la montaña de León, ha conducido a destacar la importancia de la productividad del factor trabajo en la rentabilidad de los sistemas de producción. Los sistemas más rentables han pasado a ser aquellos basados en una mayor utilización del factor tierra y menor de los factores trabajo y capital por hectárea.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto CICYT-Feder IFD1997-0776 y del contrato de investigación entre el CSIC y la empresa "Núcleo de Explotaciones Agropecuarias de León, NEAL, S.A.".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MANRIQUE, E.; MAZA, Mª.T. y OLAIZOLA A. (1994). "Classification systems in livestock farming: how and why? The point of view of a production economist." En: *The study of livestock farming systems in a research and framework*. (Gibon, A.; Flamant, J.C., eds.). pp.213-217. Wageningen Pers. Wageningen (Holland).

SAS 1989. SAS/STAT® User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.) SAS Inst.Inc., Cary, NC.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 788-790

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS Y DE LAS INSTALACIONES DE LAS EXPLOTACIONES DE GANADO VACUNO DE LA MONTAÑA DE LEÓN

E. Serrano, P. Lavín, J. López y A. R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788 24080 León.

INTRODUCCIÓN

El estudio de un sistema de producción debe incluir el estudio de las técnicas y prácticas utilizadas por los ganaderos y la caracterización de las instalaciones con que cuentan las explotaciones. Estos tres aspectos determinan las características de funcionamiento de las explotaciones y condicionan, en gran medida, su sostenibilidad social, económica y medioambiental (Deffontaines y Petit, 1985; Landais y Balent, 1995).

El objetivo de este trabajo es la descripción de las instalaciones y de las prácticas referidas a tres aspectos básicos de funcionamiento de las explotaciones (manejo sanitario, manejo resproductivo y actividad agrícola y producción de alimentos para el ganado) de un grupo de explotaciones representativas de los sistemas de producción de ganado vacuno de la montaña de León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados en este trabajo fueron obtenidos mediante la realización de encuestas en las explotaciones y corresponden a los años 1996, 1997 y 1998. Todas las explotaciones estudiadas pertenecen a la comarca de Montaña de Riaño y están integradas en un núcleo de productores de carne de vacuno. La información analizada en este trabajo corresponde a 41 explotaciones, en el primer año de estudio, y a 35 explotaciones, en los años segundo y tercero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se recoge información relativa a las características de las instalaciones, en los tres años de estudio. Las cuadras de tipo tradicional son edificios antiguos, generalmente de piedra, en la mayoría de los casos integrados en el casco urbano del pueblo, y, con frecuencia asociados a la propia vivienda del ganadero. En este tipo de instalaciones, en general, la ventilación y la iluminación son deficientes, las labores rutinarias de la explotación no pueden ser fácilmente realizadas y la realización de ampliaciones o reformas es muy dificultosa. Como se observa en la Tabla 1, el porcentaje de explotaciones que estabulaban a los animales en una cuadra de tipo tradicional osciló, en los tres años de estudio, entre el 20 y el 23 %. Un porcentaje aún más elevado de explotaciones necesitaba estabular al ganado en varias de estas cuadras tradicionales. Un porcentaje relativamente alto, en torno al 20% de las explotaciones, pese a contar con un establo de construcción reciente (nave), necesitaba utilizar, además, como consecuencia de incrementos imprevistos en el número de animales, otras cuadras complementarias.

Las explotaciones que contaban con suministro de agua corriente y luz eléctrica son mayoritarias (en torno al 80%). Por el contrario, eran claramente minoritarias las explotaciones con algún sistema de colección de residuos (aproximadamente entre el 6 y el 8%) y las explotaciones con pasillo de alimentación (entre el 20 y el 29%, aproximadamente). La mayoría de las explotaciones contaban con tractor y empacadora propios. El porcentaje de explotaciones con rotoempacadora, era por el contrario, reducido, como, por otra parte, cabría esperar dadas las características de las instalaciones. Finalmente, se puede destacar que la mayoría (entre el 70 y el

89%) contaban con el sistema de ordeño menos moderno de los tres considerados (ordeñadora de cántaras) y que una única explotación contaba con sala de ordeño.

Tabla 1: Características de las instalaciones de las explotaciones en los tres años de estudio.

		1996	1997	1998
		nº y (%) de explotaciones		
Tipo de establo:	nave	**9** (21,95)	**7** (20,00)	**9** (25,71)
	cuadra tradional	**8** (19,51)	**8** (22,86)	**8** (22,86)
	varias cuadras	**16** (39,02)	**13** (37,14)	**12** (34,28)
	nave y cuadras	**8** (19,51)	**7** (20,00)	**6** (17,14)
Características del establo				
agua corriente		**33** (80,49)	**27** (77,14)	**28** (80,00)
instalación eléctrica		**33** (80,49)	**27** (77,14)	**28** (80,00)
sistema de colección de residuos		**3** (7,32)	**2** (5,71)	**4** (11,43)
accede el tractor		**8** (19,51)	**5** (14,28)	**8** (22,86)
pasillo de alimentación		**24** (58,54)	**7** (20,00)	**10** (28,57)
Maquinaria en propiedad:	tractor	**39** (95,12)	**34** (97,14)	**34** (97,14)
	empacadora	**37** (90,24)	**32** (91,43)	**32** (91,43)
	rotoempacadora	**5** (12,19)	**4** (11,43)	**7** (20,00)
Sistema de ordeño:	no ordeña	**12** (29,27)	**13** (37,14)	**15** (42,86)
	ordeñadora de cántaras	**26** (89,65)	**18** (81,82)	**14** (70,00)
	directo en cuadra	**2** (6,90)	**3** (13,64)	**5** (25,00)
	directo en sala	**1** (3,45)	**1** (4,54)	**1** (5,00)

Como aspectos más relevantes de la información recogida en la parte superior de la Tabla 2, relativa al manejo y características sanitarias de las explotaciones, se pueden destacar los siguientes: la mayoría de las explotaciones aplicaba periódicamente a los animales tratamientos de desparasitación interna (aproximadamente el 95% de las explotaciones), sin embargo, ninguna explotación realizaba regularmente diagnósticos coprológicos con la finalidad de determinar la necesidad de aplicación y el producto de tratamiento más adecuado; la mayoría de las explotaciones (en torno al 75%) no tomaba ninguna medida sanitaria preventiva con los animales de nueva adquisición, ni en caso de que se produjesen abortos y entre un 15 y un 20 de las explotaciones, han tenido animales positivos a alguna de las enfermedades objeto de las Campañas Oficiales de Saneamiento Ganadero.

Respecto a la información relativa a las características del manejo reproductivo de las explotaciones, recogida también en la Tabla 2, se puede destacar que: la mayoría de las explotaciones encuestadas no utilizaba ninguna técnica de agrupación de cubriciones (en torno al 90% en los tres años de estudio), no llevaba ningún tipo de registro reproductivo (en torno al 75% en los tres años de estudio) y ninguna realizaba diagnósticos de gestación rutinarios.

Dentro de la información relativa a las características de las explotaciones relacionadas con la actividad agrícola y la producción de alimentos para el ganado (parte inferior de la Tabla 2), se pueden destacar los siguientes aspectos: en primer lugar, la existencia de una actividad agrícola prácticamente nula en las explotaciones; en segundo lugar, que la mayoría de las explotaciones (casi el 75% en los tres años) realizaban un único corte en todas las parcelas, lo cual indica una baja intensidad de aprovechamiento de las praderas de siega; finalmente, que, como cabría esperar teniendo en cuenta la información anterior y la relativa a las características de las instalaciones, eran pocas las explotaciones que utilizaban la técnica del ensilado para la conservación de los forrajes producidos en la explotación.

La conclusión que se obtiene a partir de la información expuesta en esta comunicación, es la mala situación técnica y de las instalaciones en la mayoría de las explotaciones estudiadas. La situación descrita indica que la mejora de los sistemas

ganaderos de la montaña de León, debe pasar por la realización de planes de formación de los ganaderos y de mejora estructural de las explotaciones.

Tabla 2: Características técnicas de las explotaciones en los tres años de estudio.

		1996	1997	1998
		nº y (%) de explotaciones		
		Manejo sanitario y características sanitarias		
Desparasitaciones:	no desparasita	**2** (4,88)	**2** (5,71)	**2** (5,71)
	una vez/año	**29** (70,73)	**26** (74,29)	**25** (71,43)
	dos veces/año	**10** (24,39)	**7** (20,00)	**8** (22,86)
Realización de coprologías:	ocasionalmente	**2** (4,88)	**2** (5,71)	**3** (8,57)
	regularmente	**0** (0,00)	**0** (0,00)	**0** (0,00)
	nunca	**39** (95,12)	**33** (94,29)	**32** (91,43)
Medidas sanitarias en los animales adquiridos:				
	desparasitación	**5** (12,19)	**4** (11,43)	**5** (14,29)
	diagnóstico serológico	**2** (4,88)	**2** (5,71)	**2** (5,71)
	ambas	**2** (4,88)	**2** (5,71)	**2** (5,71)
Adoptan medidas sanitarias preventivas en caso de aborto		**5** (25,00)	**3** (16,67)	**3** (15,79)
Resultados campaña oficial de saneamiento:				
	ningún animal positivo	**33** (80,49)	**30** (85,71)	**30** (85,71)
	positivos a brucelosis	**5** (12,19)	**4** (11,43)	**5** (14,29)
	positivos a tuberculosis	**1** (2,44)	**1** (2,86)	**0** (0,00)
	positivos a varias enfermedades	**2** (4,88)	**0** (0,00)	**0** (0,00)
		Manejo reproductivo		
Técnicas de agrupación de cubriciones:	no utiliza	**37** (90,24)	**32** (91,43)	**31** (88,57)
	de manejo	**3** (7,32)	**2** (5,71)	**3** (8,57)
	hormonales	**1** (2,44)	**1** (2,86)	**1** (2,86)
Realizan diagnóstico de gestación rutinario		**0** (0,00)	**0** (0,00)	**0** (0,00)
Realizan control reproductivo:	Si	**10** (24,39)	**9** (25,71)	**8** (22,85)
	No	**30** (73,17)	**25** (71,42)	**26** (74,28)
	No contesta	**1** (2,44)	**1** (2,86)	**1** (2,86)
		Actividad agrícola y producción de alimentos para el ganado		
Nº de cortes:	1 en todas las parcelas	**30** (73,17)	**26** (74,28)	**26** (74,28)
	2 en algunas parcelas	**10** (24,39)	**8** (22,86)	**8** (22,86)
	no siegan	**1** (2,44)	**1** (2,86)	**1** (2,86)
Producción de ensilado:	no hacen silo	**27** (65,85)	**25** (71,43)	**22** (62,86)
	de hierba	**12** (29,27)	**7** (20,00)	**11** (31,43)
	de maíz	**2** (4,88)	**2** (5,71)	**1** (2,86)
	hierba y maíz	**0** (0,00)	**1** (2,86)	**1** (2,86)
Actividad agrícola:	de ningún tipo	**34** (82,93)	**29** (82,86)	**29** (82,86)
	forrajes	**6** (14,63)	**6** (17,14)	**6** (17,14)
	cereales o leguminosas grano	**1** (2,44)	**1** (2,86)	**1** (2,86)

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto CICYT-Feder IFD1997-0776 y del contrato de investigación entre el CSIC y la empresa "Nucleo de Explotaciones Agropecuarias de León, NEAL, S.A.".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEFFONTAINES, J. P. et PETIT, M. (1985). *Comment étudier les exploitations agricoles d'une region? Présentation d'un ensemble méthodologique.* INRA Etudes et Recherches sur les Systèmes Agraires et le Développement, nº 4. INRA. Dijon (France).

LANDAIS, E. et BALENT, G. (1995). Introduction à l'étude des systèmes d'élevage extensif. En: *Pratiques d'élevage extensif. Identifier, modéliser, évaluer.* (Landais, E. ed.). pp. 13-35. Etudes et Recherches sur les Systèmes Agraires et le Développement, nº 27. INRA. Dijon (France).

APROVECHAMIENTO DE RECURSOS ALIMENTICIOS EN LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO DE CRÍA DE LAS SIERRAS DE LA RIOJA

I. CASASÚS[1], E. MANRIQUE[2], R. REVILLA[1]

[1] Unidad de Tecnología en Producción Animal. SIA. Zaragoza
[2] Unidad de Agricultura y Economía Agraria. Facultad de Veterinaria. Zaragoza

INTRODUCCIÓN

En el marco de un estudio para establecer una marca de calidad de carne de vacuno para las Sierras de la Rioja se realizaron una serie de encuestas en explotaciones de vacuno de cría localizadas en dicha zona. Su objeto fue conocer las estructuras productivas y aspectos técnicos del sistema de producción, de cara a determinar la oferta potencial de terneros y sus principales características (Manrique et al., 2003). En este trabajo se incide en las pautas de aprovechamiento de los recursos alimenticios en pastoreo y de la alimentación ofrecida en estabulación, tanto por las vacas de cría como por los terneros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para conseguir estos objetivos, se realizó una encuesta a 73 ganaderos de La Rioja, configurándose una muestra representativa de los principales estratos de dimensión de las explotaciones existentes en la Comunidad. La encuesta realizada representó al 22,5 % de las explotaciones existentes en la Comunidad (73 / 325) y al 29,6 % del censo reproductor explotado (4584 / 15507). La toma de datos se realizó en la campaña 1999-2000.

Entre otros aspectos, el cuestionario recogía información sobre los censos ganaderos, tipos raciales, factor trabajo, instalaciones y utillaje, superficies y aprovechamientos, manejo reproductivo, manejo en pastoreo, alimentación en establo, manejo sanitario, técnicas de producción de terneros, aspectos de comercialización y dinámica de las explotaciones. Los principales resultados se han presentado en otros trabajos (Manrique et al., 2000 y 2003).

En cuanto a las superficies, se interrogó acerca de la superficie agrícola y forrajera gestionada por la explotación y la tenencia de dicha superficie (propiedad, arrendamiento, comunales, otros). Se indicó igualmente la estructura de aprovechamientos agrícolas (barbechos, cereales, etc.) y forrajeros (pastizales, prados naturales, praderas polifitas y cultivos forrajeros).

Con referencia al manejo alimenticio del rebaño, se obtuvo información sobre las fechas de utilización de los distintos tipos de pastos y el tipo de guarda realizado (con pastor, cercados, pastor eléctrico o sin guarda). También se realizó una valoración de las infraestructuras de pastoreo (accesos, cercados, abrevaderos, mangas y refugios), calificándose como buenas, medias o malas/inexistentes.

La alimentación en pesebre se describió considerando el periodo de estabulación, el estado fisiológico de los animales estabulados y el tipo de alimentos distribuidos. En los terneros se determinaron las fechas de destete, el suministro de alimentos complementarios a la leche materna (forrajes o concentrados) y la edad de inicio en su consumo, así como los alimentos utilizados en cebo, si se cebaban. En todos los casos se determinó la procedencia de estos alimentos.

Finalmente, en el apartado de dinámica de la explotación se cuestionó entre otros aspectos sobre la intención de realizar cambios en el futuro en la explotación y en qué consistirían.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados cuantitativos referidos a las superficies de explotación fueron de difícil interpretación, ya que sólo el 56,2 % de las explotaciones aportó información fiable. Por ello este trabajo se refiere únicamente a la proporción de explotaciones que utilizaban los diferentes tipos de recursos.

El marcado carácter extensivo de las explotaciones queda patente por la importancia de los pastizales como base del sistema de producción, siendo de propiedad ajena o comunal en la mayoría de los casos, y con dimensiones muy variables (de 20 a 5000 ha) (Tabla 1). En lo referente a superficies mixtas destinadas a la siega y al pastoreo, a pesar de una relativa abundancia de explotaciones que disponían de prados naturales y/o praderas, su superficie media era limitada (5,4 y 6,7 ha, respectivamente). Destacó la escasa incidencia tanto de cultivos forrajeros como de otros no directamente relacionados con la alimentación animal, reflejada en el escaso número de explotaciones que disponía de maquinaria agrícola o grandes aperos (Manrique et al., 2000).

Tabla 1. Importancia de las distintas superficies forrajeras o de cultivo en el conjunto de las explotaciones.

	% de explotaciones que los usan
Pastizales	83,6
– Comunales	79,4
Prados y/o praderas polifitas	31,5
Cultivos forrajeros monofitos	13,7
– Alfalfa	8,2
– Esparceta	2,7
– Veza	1,4
Cereales	8,2

El periodo de pastoreo sobre estos recursos fue como media de 216 ± 49,7 días, iniciándose el 14 de abril (± 33,4 días) y finalizando el 16 de noviembre (± 27,2 días). Es destacable la práctica inexistencia de los llamados periodos intermedios, generalizados en otras áreas (Manrique et al., 1992) y basados en la utilización a diente de los recursos de fondo de valle en primavera y otoño. Esto se debe a lo reducido de dichos recursos en estas sierras, y a la existencia de amplias superficies extensivas, muchas de ellas arboladas y localizadas a diversas altitudes, lo cual permite un pastoreo continuo durante 7 meses al año, e incluso el mantenimiento en ellas de los animales no productivos durante el periodo invernal.

El régimen de vigilancia era igualmente muy extensivo, ya que la mayoría de las explotaciones (52,1 %) carecían de cercados fijos o móviles y sólo vigilaban el ganado presencialmente de forma periódica.

A pesar de la importancia del pastoreo, las infraestructuras asociadas se valoraron negativamente, ya que sólo los accesos a los pastos fueron calificados como "buenos" o "medios" por un 59,4 % de los encuestados, mientras que los cercados, las mangas de manejo y los refugios se valoraron como "malos o inexistentes" por el 67,6 %, 83,6 % y 91,8 % de los encuestados, respectivamente.

El periodo de estabulación tuvo una duración media de 149 ± 49,7 días, con dos estrategias diferenciadas de invernada: la clásica de estabulación, practicada por la mayoría de las explotaciones encuestadas (94,5 %), y la permanencia del ganado al aire libre con suplementación, o más raramente sin ella, practicada sólo por el 5,5 % de los ganaderos, aunque podría generalizarse en el futuro. En las explotaciones con estabulación invernal clásica, ésta afectaba a todo el rebaño (98,2

% de las explotaciones que estabulan) o sólo a las vacas que parían durante la invernada (7,2 % de las explotaciones), mientras el resto pasaban el invierno al aire libre con suplementación.

La alimentación de las vacas durante la invernada se basaba en alimentos concentrados (harinas de cereales o piensos compuestos) y como ración de volumen principalmente paja y en menor proporción heno. Otros productos utilizados eran forrajes deshidratados o ensilados, aunque en muy escasa proporción. Tanto los concentrados como la paja eran comprados en la mayoría de las explotaciones, mientras que los henos eran principalmente de producción propia.

Tabla 2. Alimentación ofrecida a las vacas en estabulación y proporción de explotaciones que la adquirían fuera de la misma.

	% explotaciones en que se usa	% de explotaciones que lo adquieren *(sobre las que lo usan)*
Piensos	97,3	94,3
Paja	98,6	94,4
Henos	42,5	32,2
Otros	9,6	71,4

En cuanto a la alimentación de los terneros, destacar que la mayoría de las explotaciones (84,7 %) comercializaban sólo terneros destetados jóvenes y ligeros, con una edad media al destete de 4,5 meses. Se observó una gran variabilidad en las pautas entre explotaciones y dentro de la misma granja, en función de la época de nacimiento del ternero.

Respecto a la alimentación en establo, la mayoría de las explotaciones ofrecieron suplementación en lactación (93,1 %). Se utilizaron tanto forrajes, principalmente paja (54,4 %), heno (14,7 %) o ambos (13,2 %), como concentrados de arranque (93,1 %), iniciándose el consumo a edades muy variables, desde el nacimiento a los 2 meses sin una pauta predominante.

En la mayoría de las explotaciones (52,7 %) los terneros no pastaban nunca durante la cría, frente a un 16,7 % en las que se criaban siempre en pastoreo, y un 30,6 % que supeditaban el manejo a la época de nacimiento del ternero.

Las explotaciones que cebaban terneros (15,3 %) lo hacían según un sistema convencional basado en paja y concentrados, sin uso de pastos u otros forrajes.

Entre las intenciones de cambios para el futuro destacó la mejora de infraestructuras que facilitaran el pastoreo (20,7 % de los encuestados), sobre todo realizar desbroces para incrementar la superficie pastable y mejorar la calidad del pasto, así como mejorar los cercados, accesos y abrevaderos.

CONCLUSIONES

Los sistemas de producción de vacuno de cría en las Sierras de La Rioja se basan en una utilización muy extensiva de los pastos por parte de las vacas, mientras que su uso por los terneros es más limitado. El sistema se basa en largos periodos de pastoreo sobre superficies no mecanizables, e invernadas cortas con alimentación principalmente adquirida. Por ello, y para minimizar la dependencia de recursos externos, el destete de los terneros es relativamente temprano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Manrique et al., 1992. Bovis 42: 9-42.
Manrique et al., 2000. Informe. Ed. CEIP Logroño. 146 pp.
Manrique et al., 2003. XLIII Reunión Científica de la S.E.E.P., Granada.

ITEA (2003), Vol. **Extra N.º 24.** Tomo II, 794-796

DISEÑO DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE PORCINO AL AIRE LIBRE EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DEL PAÍS VASCO

Ruiz R. [1], Domingo A. [2], Oregui L.M. [1]
[1]NEIKER A.B., Apdo. 48, 01080 Vitoria-Gasteiz
[2]Txerrizaleok Elkartea, Pza. Simon Labayen s/n, 20490 Albiztur, Guipúzcoa.

INTRODUCCIÓN

En la búsqueda de alternativas económicas para la ganadería local, las Asociaciones de Agricultura de Montaña de Guipúzcoa decidieron impulsar en 2000 un proyecto de I+D con el objetivo de estudiar la viabilidad de un sistema de cebo de lechones en condiciones de libertad y la producción de carne de calidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la realización del estudio participaron cinco ganaderos que disponían de terrenos de monte, los cuales se vallaron para que en cada explotación pudieran disponerse 2 lotes de animales en condiciones similares. En ellas se introdujeron hembras y machos castrados: 40 cerdos Ibéricos (IB), 40 híbridos de Large White - Landrace x Duroc (LWLD), 50 Dalland (Da), y 40 Dalland x Pietrain (DaP). Una vez pesados, crotalados y provistos de anillas en el hocico se distribuyeron de modo que hubiera 2 lotes de animales de cada raza, cada uno criado en una explotación diferente, se realizaron pesadas de manera sistemática durante el cebo y al sacrificio.

Al margen de que pudieran pastar, los animales recibieron pienso ad libitum de las siguientes características: estar compuesto por al menos un 70% de cereales, 3,1 Mcal EM / kg MS, 18% de PB, 4,8% de FB y 1% de lisina. Desde los 60 kg de PV el contenido en PB se redujo al 15% y la lisina al 0,7%. No obstante los IB siguieron un régimen especial para limitar su engrasamiento: partiendo de 1,2 kg/día durante las semanas siguientes esta cantidad se incrementó en 0,1 kg semanales. En todas las explotaciones se llevó a cabo un seguimiento de los crecimientos, consumos, etc.

Respecto a la calidad de la canal se tomaron, entre otras, las siguientes medidas: peso de la canal; espesor de la capa de grasa (G_{3-4}) y de músculo (M_{3-4}) en el lomo al nivel de la 3ª y 4ª costilla para determinar el porcentaje de magro (PM) de la canal (Gisbert y Diestre 1996), y conformación. Esta se realizó según el patrón de la Orden 5 de Noviembre de 1990, publicada en el BOE nº 270 del 11-11-90: AA, A, B, y C. A éstos se les otorgó valores de 10, 7, 4 y 1, pero además sobre cada uno de ellos se trató de afinar asignando +1 o –1, de modo que se obtuvo una escala de 0 a 11.

Con el objeto de recoger la opinión de los carniceros se realizaron unos escandallos en los que valoraron la conformación, el contenido en grasa, color, textura, aspecto, exudación e infiltración de la carne y de la canal. Por último se realizaron unos paneles de cata en los que se evaluó la apariencia, color y olor de la carne de lomo cruda, y el color, olor, sabor, jugosidad y terneza de la carne cocinada. En esos paneles se emplearon 2 muestras por raza y se incluyeron otras dos procedentes de cerdos criados mediante sistemas industriales. Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SAS (SAS Proc. Guide, 1990)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Desde el punto de vista del manejo, los principales procesos patológicos se relacionaron con alteraciones respiratorias. La capacidad de adaptación de los IB quedó patente en el hecho de que presentaron una morbilidad y una mortalidad (20 y 5% respectivamente) inferior al resto: la morbilidad fue del 28% en Da, 38% en DaP y 45% en LWLD, y la mortalidad del 13, 10 y 10%, respectivamente.

Los animales de la raza LWLD comenzaron a presentar un crecimiento diferencial con respecto a las otras razas desde los 3,5 meses de edad, lo que parece sugerir un mayor potencial de crecimiento bajo este sistema de producción (Gráfico 1). Entre los Da y DaP no se observaron diferencias hasta la última fase del estudio, donde la raza pura presentó unos pesos ligeramente superiores. El patrón de crecimiento de los IB fue más tardío y con unos ritmos significativamente más lentos.

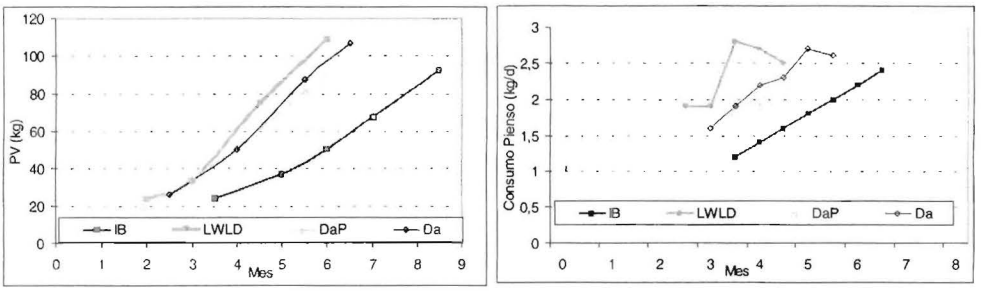


Gráfico 1. Evolución del peso y el consumo diario de pienso en las distintas razas.

Igualmente los LWLD presentaron desde muy temprano mayores consumos que el resto, lo que contribuiría a explicar el crecimiento observado. El índice medio de conversión fue de 5,1 en los IB, 3,2 en los LWLD, 2,9 en Da, y 2,47 en el DaP. Dadas las características del estudio, no se pudo cuantificar la incidencia del pastoreo, lo que sin duda debió afectar a los consumos observados.

Tabla 1.- Valoración de parámetros relativos a la canal

	P. sacrif. (kg)	P. Canal (kg)	Rto. canal (%)	Conformación (Puntos)	(Tipo)	Tocino dorsal (mm)	Magro canal (%)
IB	92,6	75,0	80,9	2,6	C+ / B-	45	57,7
LWLD	108,6	90,4	81,7	5,9	A-	31	59,0
DaP	106,3	90,0	82,2	8,7	AA-	29	59,2
Da	106,6	87,5	82,1	7,3	A	28	59,2

Como era de esperar, se observaron diferencias significativas en la conformación de la canal y en el espesor de tocino dorsal (Serra et al., 1998). Tanto las canales como la carne de IB fueron las mejor valoradas por los carniceros en prácticamente todos los apartados (Gráfico 1). Si bien las diferencias observadas entre las 3 razas de línea blanca no fueron significativas (P>0,05), la raza LWLD tiende a ser mejor valorada que las otras dos.

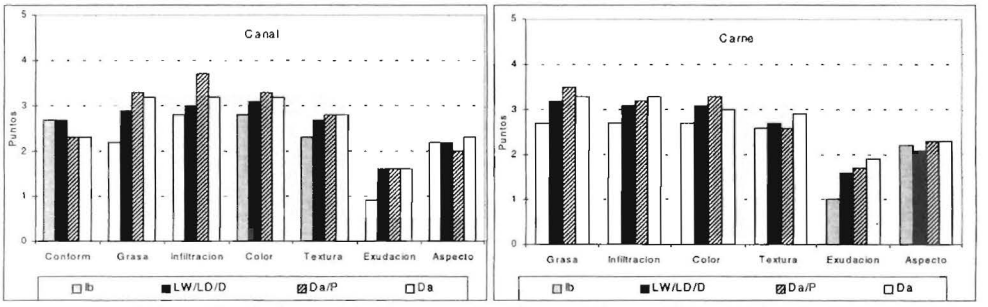


Gráfico 2.- Valoración de la canal y la carne por los carniceros (1=muy buena, 5=muy mala)

Por lo que se refiere a los datos aportados por los consumidores en las catas, la valoración de la carne cruda no ha puesto de manifiesto una tendencia clara de preferencias por parte de los consumidores, al igual que la valoración del color y el olor a partir de las muestras cocinadas. Respecto a la terneza, jugosidad y sabor, la carne de los animales LW fue la mejor valorada, seguidos del IB. La carne procedente de sistemas industriales recibió la peor puntuación, lo que confirmaría el efecto positivo que el sistema al aire libre tiene sobre la calidad del producto final.

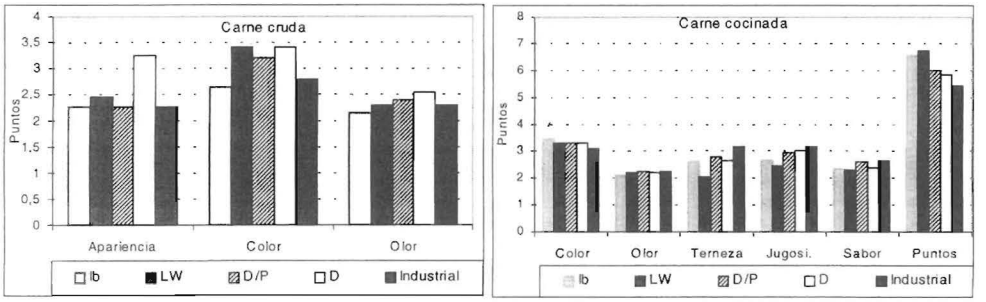


Gráfico 3.- Valoración de la carne cruda y cocinada mediante catas (1=muy buena a 5=muy mala). La puntuación media total se realizo de 0 (peor) a 10 (mejor).

Por tanto, los resultados obtenidos no fueron concluyentes en el sentido de que todas las razas presentaron ventajas en unos aspectos y desventajas en otros. Así, la carne procedente de los cerdos IB fue la que obtuvo una mejor valoración por parte de carniceros y consumidores. Sin embargo los elevados costos de producción y su bajo rendimiento, desaconsejarían su utilización en la CAPV.

Los animales de las razas Da y D/P fueron los que presentaron una mejor valoración en el matadero. No obstante fueron los peor evaluados tanto por carniceros como por los consumidores. Al parecer la raza LW-LD/D fue la que permite un mejor compromiso entre aceptación tanto por carniceros como por consumidores, crecimientos y adaptación a las condiciones del sistema (Oliver et al., 1994). Con el objeto de mejorar los resultados obtenidos en conformación, veteado, cantidad y calidad de la grasa, así como el porcentaje de grasa en la carne, se sugiere un peso al sacrificio en torno a los 120 kg de PV.

AGRADECIMIENTOS

La financiación de este proyecto corrió a cargo del Departamento de Industria, Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco. Los autores quieren agradecer la colaboración de la Fundación Kalitatea, la Asoc. de Agricultura de Montaña Tolomendi, el IRTA (Lleida) y los ganaderos que participaron en el proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOE nº 279 del 11-nov-1990.

Gisbert M., Diestre A., 1996. Eurocarne nº 51: 45-50.

Oliver M.A. Gou P., Gispert M., Diestre A., Arnau J., Noguera J.L., Blasco A., 1994. Livest. Prod. Sci. 40: 179-185.

SAS Proc. Guide, 1990.

Serra X., Gil F., Perez-Enciso, Oliver M.A., Vázquez J.M., Gispert M., Díaz I., Moreno F., Latorre R., Noguera J.L., 1998. Livest. Prod. Sci. 56:215-223.

CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS EN EXPLOTACIONES OVINAS DE RAZA ASSAF EN LA PROVINCIA DE LEÓN

P. Díez[1], Y. Martínez[1], B. Villadangos[1], E. Huerga[2], A.R. Mantecón[1]
[1] Estación Agrícola Experimental, CSIC. Apartado 788.24080 León (España).
[2] Diputación Provincial de León. Plaza San Marcelo, 6. 24071 León (España).

INTRODUCCIÓN

Una parte, cuantitativamente muy importante, de la producción de leche de oveja en Castilla y León tiene lugar, en la actualidad, a partir de la explotación de ovejas de raza Assaf (Lavín et al., 2001). El rendimiento de las explotaciones ovinas de ordeño viene condicionado, en gran medida, por la cantidad de leche producida en la lactación, la cual es el resultado de la producción diaria y de la duración de la lactación. Estos aspectos productivos son de interés para planificar el manejo, nutrición y reproducción, así como para el establecimiento de planes de mejora racial.

Este trabajo pretende realizar una primera aproximación a las características productivas de las explotaciones productoras de leche que poseen raza Assaf en la provincia de León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha utilizado la información correspondiente a los años 2000 y 2001, de 26 explotaciones ganaderas integradas en el Programa de Mejora de la Raza Assaf en la provincia de León. El número total de lactaciones utilizadas fue de 14.059 en el año 2000 y de 13.141 en el año 2001. Los parámetros utilizados en el trabajo han sido: tamaño medio de los rebaños, nº de lactaciones/rebaño, duración media de la lactación en cada rebaño (días), leche total producida por lactación (litros). El control de leche fue realizado mensualmente de forma alterna (mañana/tarde), en todas las explotaciones. También mensualmente se recogió, en todas las explotaciones, la información correspondiente a fecha de parto y altas y bajas de animales. El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tamaño medio de los rebaños estudiados fue de 528, con valores máximos y mínimos de 264 y 1356 ovejas adultas/explotación.

En la tabla 1 se presentan los valores (máximos, mínimos y media) para los distintos parámetros estudiados, correspondientes a los años 2000 y 2001 y el nivel de significación estadística entre ambos años.

Tabla 1. Producción de leche (litros/lactación), duración de la lactación y número y distribución de las lactaciones por producción, en los dos años de estudio.

	2000			2001			Nivel de Significación P=
	Máx.	Mín.	Media	Máx.	Mín.	Media	
Producción de leche total	337	138	244	402	189	283	0,0000
Producción de leche 120 días	220	96	162	281	134	193	0,0000
Duración de la lactación	218	112	166	229	148	183	0,0001
Nº de lactaciones/rebaño	1.598	285	541	1.511	244	505	0,1802
% lactaciones < 100 litros	49,2	9,7	20,4	28,0	5,2	14,0	0,0000
% lactaciones 101-180 litros	38,9	11,3	22,4	36,7	10,0	21,2	0,3302
% lactaciones 181-260 litros	29,1	12,6	21,8	32,2	12,5	22,9	0,3624
% lactaciones > 260 litros	63,1	1,9	35,4	72,2	13,8	41,9	0,0105

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P<0,05) entre años en la producción de leche, tanto en términos de producción total por lactación como en la producción estandarizada a 120 días de lactación, con un mayor valor en el año 2001.

El incremento en producción puede ser explicado por la diferencia significativa en la duración de la lactación (P<0,05) o por la diferencia en la producción media diaria (P<0,05; 1,48 vs 1,55 litros/día para los años 2000 y 2001, respectivamente) o por ambos.

Los valores indicados en la tabla 1 en relación con la lactación hacían cuestionarse el empleo del parámetro "producción de leche estandarizada a 120 días de lactación", que ha sido empleado en los trabajos de nuestras razas autóctonas, ya que el valor mínimo de la explotación supera los 120 días de duración de la lactación en el año 2001.

En este mismo sentido, la proporción de lactaciones con valores menores de 100 litros disminuyeron y las mayores de 260 litros aumentaron en el año 2001, en comparación con el año 2000.

El incremento en producción entre los años 2000 y 2001 puede ser consecuencia del establecimiento de un Programa de Mejora Genética en el que se integran las explotaciones consideradas en este trabajo. Si bien, los aspectos de mejora en las condiciones de manejo, nutrición, etc. de las explotaciones también han de ser tenidas en cuenta.

En las tablas 2 y 3 se presentan las características productivas en función del tamaño de los rebaños y de la producción media por lactación, respectivamente, para los dos años de estudio considerados.

Tabla 2. Características de la producción de leche en rebaños de raza Assaf para los distintos tamaños de los rebaños.

	<350	351-450	451-750	>750	Nivel de Significación
Nº de rebaños	6	9	7	4	
Tamaño del rebaño	313,8^{a}	386^{b}	581,1^{c}	1.077,2^{d}	0,0000
Producción de leche					
Total (l)	265,3	281,1	252,3	241,6	0,3070
Normalizada 120 días (l)	180,7	188,3	172,3	158,0	0,2887
Duración de la lactación (días)	168,4	178,9	170,9	178,6	0,5615
Lactaciones/rebaño	378,2^{a}	388,3^{a}	550,9^{b}	995,0^{c}	0,0000
% lactaciones < 100 l	14,6	16,9	19,0	18,7	0,5506
% lactaciones 101-180 l	20,8	20,6	23,5	23,1	0,7101
% lactaciones 181-260 l	23,4	22,2	22,6	20,6	0,6689
% lactaciones > 260 l	41,1	40,4	35,0	37,6	0,7684

Ni la producción de leche total, ni la producción estandarizada a 120 días de lactación, ni la distribución de las lactaciones en función de la producción se vieron afectados, de forma estadísticamente significativa (P>0,05), por efecto del tamaño del rebaño.

La relación nº lactaciones/tamaño del rebaño se vio afectada de manera estadísticamente significativa (P<0,05), disminuyendo al aumentar el tamaño (1,21 y 0,91, para los tamaños de rebaño menor y mayor, respectivamente), lo cual puede ser indicativo de una menor intensidad reproductiva o mayor número de ovejas improductivas, al aumentar el tamaño de las explotaciones.

Este aspecto es especialmente importante desde el punto de vista económico, ya que el aumento en el tamaño de la explotación no va acompañado de una

extensificación de la misma, con la consiguiente reducción de costes de producción, sino más bien al contrario.

Tabla 3. Características de la producción de leche de la raza Assaf en función de la producción media de los rebaños (litros/lactación).

	<220	221-280	>280	Nivel de Significación P=
Nº de rebaños	6	11	9	
Tamaño del rebaño	652,1	501,9	477,9	0,1858
Producción de leche				
Total (l)	$194,6^{a}$	$251,6^{b}$	$324,4^{c}$	0,0000
Normalizada 120 días (l)	$133,3^{a}$	$170,4^{b}$	$215,9^{c}$	0,0000
Duración de la lactación (días)	$162,0^{a}$	$165,6^{a}$	$193,1^{b}$	0,0000
Lactaciones/rebaño	581,4	506,9	504,0	0,7145
% lactaciones < 100 l	$27,0^{c}$	$17,6^{b}$	$10,1^{a}$	0,0000
% lactaciones 101-180 l	$32,0^{c}$	$22,0^{b}$	$14,9^{a}$	0,0000
% lactaciones 181-260 l	23,6	23,5	20,1	0,0603
% lactaciones > 260 l	$17,5^{a}$	$37,0^{b}$	$54,9^{c}$	0,0000

a,b,c valores con distinto superíndice en cada fila presentan diferencias estadísticamente significativas (P<0,05).

La duración y la producción de leche por lactación no presentaron diferencias estadísticamente significativas debidas al efecto del tamaño del rebaño, si bien se puede observar una disminución, en los valores medios de ambos parámetros, al aumentar el tamaño de los rebaños. En este mismo sentido, la producción media diaria por oveja tendió (P=0,1822) a ser menor en los rebaños más grandes (1,58 y 1,36 l/d para los rebaños de menor y mayor tamaño, respectivamente).

Cuando los resultados se analizan en función del nivel de producción (ver tabla 3) es de destacar la mayor (P<0,0001) duración de la lactación en el grupo de mayor producción (>280 l/lactación), frente a los otros dos grupos, entre los cuales las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Asimismo, la producción individual diaria aumentó (P<0,0001) al hacerlo la producción por lactación, con valores de 1,20; 1,54 y 1,69 l/d para los grupos de menor a mayor producción, respectivamente. Si bien ambos parámetros determinan la producción total de leche, con los resultados indicados pareciera que la producción individual es cuantitativamente más importante que la duración de la lactación en el establecimiento de las diferencias en los litros totales de leche obtenidos por lactación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado en el desarrollo del Convenio suscrito entre la Excma. Diputación Provincial de León y el CSIC para el desarrollo del Programa de Mejora de la Raza Assaf en la Provincia de León.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Lavín, P., Mantecón, A.R., Villadangos, B., López, J. y Díez, P. (2001). Análisis económico de las explotaciones de ovino de leche de raza Assaf. *ITEA, Volumen extra* 22, 218.220.

SAS (1993). SAS Companion for the Microsoft Windows Environment, version 6. SAS Institute Inc., Cary, NC.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 800-802

EL SECTOR OVINO EN LA ARGENTINA. I. ANTECEDENTES Y SITUACION ACTUAL

M. V. MBA Carlos Alberto González
Santamarina 576 - 7000 Tandil - Argentina
E. Mail: albpg@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCION

La producción ovina constituyó uno de los pilares básicos de la economía nacional argentina. Cumplió un rol preponderante en virtud del extraordinario aporte de divisas por la exportación de lanas, cueros, carnes y de animales en pie. Asimismo, contribuyó sustancialmente al proceso de expansión e integración del país a partir de la segunda mitad del siglo XIX. En el siglo XX se inició un progresivo retroceso, originado por factores de orden interno y externo que provocaron una reducción significativa en el stock ovino en el orden del 80%, pasando a cumplir un rol secundario en la economía agropecuaria, a excepción de la Patagonia. El trabajo tiene como objetivos describir el proceso de evolución del sector ovino argentino desde el siglo XIX hasta el presente y analizar los factores que determinaron su involución.

MATERIALES Y METODO

Se tomó como base, información secundaria generada por la Federación Lanera Argentina, el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Servicio Nacional de Sanidad Ganadera, Secretaría de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentación, Censos Nacionales Agropecuarios, Jornadas, Congresos y Libros. Asimismo, se efectuaron entrevistas personales a informantes calificados. Se consideraron datos estadísticos sobre stock, producción, exportaciones y los factores más relevantes que gravitaron sobre el sector.

RESULTADOS Y DISCUSION

A partir de 1810, la apertura del puerto de Buenos Aires al comercio de ultramar y la creciente demanda de lana por parte de compradores del exterior, constituyó un poderoso estímulo para la expansión y mejoramiento de las majadas criollas con reproductores importados de la raza Merino. Sin embargo, la industria textil no pudo competir con los progresos tecnológicos logrados en países europeos por lo tanto quedó relegada a un bajo nivel de actividad. A partir de mediados del siglo XIX, se incrementaron las exportaciones de lana a un ritmo acelerado registrándose envíos al exterior de 108.956tn en el quinquenio 1880-1884.
El año 1876 marcó otro hito ya que el desarrollo de la tecnología de frío en los barcos frigoríficos abrió las posibilidades de exportar carnes congeladas. Ante esta oportunidad, se iniciaron los cruzamientos de las majadas Merino con morruecos de las razas Romney Marsh y Lincoln, para mejorar las características carniceras y la conservación de la carne durante el trasporte. Estos cruzamientos, al no realizarse con un criterio racional, produjeron un mosaico de finuras y un deterioro de la calidad de lana. A fines del siglo XIX, la ganadería ovina llegó a su máxima expansión registrándose en 1895 un stock de 74.379.562 cabezas lo cual le permitió exportar en 1899 237.110tn de lana, 543.458 lanares vivos, 56.627tn de carne congelada y 41.697tn de cueros. Las lanas y cueros se exportaron en su mayor parte, como sucias y secos respectivamente lo cual indica la baja aplicación de valor agregado. Desde el inicio del siglo XX, la producción ovina inició un retroceso, con algunos períodos de recuperación, pero sin llegar nunca a los niveles de 1899, provocado por numerosos factores. Las inundaciones de los campos en la provincia de Buenos Aires entre los años 1900 a 1909 y la competencia ejercida por la ganadería bovina y la agricultura

determinaron que el censo del año 1922 acusara una cifra de 36.208.981 cabezas. A posteriori, hubo períodos de recuperación por la crisis que sufrió la ganadería vacuna, la externalización de los efectos de la segunda guerra mundial, las altas cotizaciones internacionales de la lana, entre otros. A partir de 1965 la producción lanera internacional entró en una de las mayores crisis de su historia y durante los años 1969 a 1971 se produjo un brusco descenso de las cotizaciones de la lana en el mercado internacional por retracción de la demanda, principalmente por la competencia ejercida por las fibras sintéticas. Como consecuencia, la existencia de ganado ovino llegó en 1974 a 39.000.000 de cabezas ya que no existieron políticas para amortiguar los efectos de la situación internacional y como el ovino era un tradicional e importante generador de divisas para el país los gobiernos siguieron haciendo uso de sus bondades. Mientras tanto, Nueva Zelanda y Australia, coherentes en sus políticas, aprovecharon la oportunidad para establecer un rápido crecimiento y desarrollo de mercados y posicionamiento internacional.
Uno de los factores más relevantes que afectaron al sector fueron las políticas gubernamentales que durante mas de 42 años, a partir de 1947, determinaron un quite cambiario-impositivo promedio del 35,4% para la exportación de lanas sucias, principal rubro de exportación lo cual afectó la rentabilidad de los sistemas de producción. De otra manera, la empresa agropecuaria hubiera recibido durante ese período un 59% más de precio. La caída del stock, la falta de desarrollo y competitividad de la industria local y la falta de implementación de políticas agropecuarias de largo plazo constituyeron un círculo vicioso que se tradujo en un creciente desinterés del estado para reconvertir la situación porque ya no le generaba la magnitud de divisas de antaño.

Situación Actual:

Stock ovino: el stock nacional actual es de 13.935.000 cabezas distribuidas por región de la siguiente manera, 8.466.000 en la Patagonia, 2.312.000 en la Pradera Pampeana, 1.518.000 en la Mesopotamia y 1.639.000 en el resto del país.

Características regionales:
Patagonia: se caracteriza, en general, por presentar un medio ambiente poco favorable para la explotación de otras especies que no sean la caprina y ovina. La aridez de sus campos, intensos fríos, nieve, bajas precipitaciones, determina que en general, el bovino ocupe un lugar secundario en las ganaderías. Los sistemas de producción son extensivos con una receptividad de 4 a 1ha/oveja. Las razas mas importantes son la Merino, y la Corriedale, utilizada la primera en sistemas laneros y la segunda en sistemas doble propósito, lana y carne. Las características de los campos, inclemencias climáticas, tipo racial, manejo determinan porcentajes de señalada promedio del 56% (corderos vivos/oveja encarnerada, tomado a los 20 días de finalizada la época de parición) y pesos de vellón sucio, promedio de majada, entre 3,8 a 5kg.
Pradera pampeana: en esta región, el ovino ocupa un lugar secundario, en mucho de ellos conforman majadas de consumo interno. La agricultura y la ganadería vacuna han desplazado al ovino, hasta su desaparición en gran cantidad de empresas. Los sistemas de producción predominantes son extensivos con una receptividad de 3 a 6 ovejas/ha, en campos con pastos naturales. Las razas predominantes son la Corriedale, Romney Marsh y Lincoln. En general son utilizadas en sistemas carne-lana. Existen otras razas de menor importancia, al igual que en el resto del país. Si bien es una región favorable para todo tipo de producción, deficiencias de manejo determinan porcentajes de señalada del orden del 70% y pesos de vellón, promedio de majada, entre 4 a 5kg., salvo en la raza Lincoln que supera los 6kg peso vellón.
Mesopotamia: si bien cumple un rol secundario al igual que en la pradera pampeana, su participación es mayor, predominando en sistemas ganaderos mixtos bovino-ovino, extensivos y doble propósito. La receptividad de los campos es de 2 a 3 ovejas/ha. Las razas predominantes son la Corriedale y Romney Marsh. Los porcentajes de señalada rondan el 60% y el peso de vellón, promedio de majada es de 3,8 a 4kg.

Noroeste: las explotaciones ovinas, en general, se desarrollan en campos de muy baja receptividad, 3 a 4ha/oveja, en economías de subsistencia y con bajas probabilidades de progreso. El tipo de ovino mas común es el Criollo el cual produce vellones vastos, con gran porcentaje de fibras meduladas, de 0,8Kg, promedio de majadas.

Producción de lana y exportaciones: la producción de lana de la zafra 2001/2002 fue de 57.000tn. Las lanas finas, de hasta 24.9µ, contribuyeron con el 47% (26.800tn), las cruzas finas, entre 25,0 a 29,2µ, con el 39% (22.200tn), las cruzas medianas, entre 29,3 a 34,4µ con el 10% (5.900tn) y las cruzas gruesas, mas de 34,5µ, con el 4% (2.100tn). Las exportaciones se realizaron en un 22,5 % (14.953tn) como lana sucia, 19% (12.591tn) como lana lavada, 58,4% (38.790tn) como lana peinada, 0,052% (35tn) como lana hilada y el 0,013% (89tn) como productos terminados. De lo expuesto se deduce que el 99,9% de nuestras exportaciones son de bajo a medio valor agregado. El valor de las exportaciones fue de 129.168.000 dólares (FOB) y los principales países compradores fueron China, Italia, Alemania, Uruguay, Francia, España, Bélgica, India, México, R. Unido, Taiwán, Turquía, Perú, Chile y Japón. Los precios promedio por finura durante 2002 fueron de U$S 4,23, U$S 3,34, U$S 3,27, U$S 3,27, U$S 3,12 y U$S 2,77 (lanas al barrer con el 50% de rinde y llevada a base limpia) para las finuras 19µ, 20µ, 21µ, 22µ, 25µ y 27µ, respectivamente.

Producción de carne, exportaciones e importaciones: teniendo en cuenta la faena o sacrificios registrados por SENASA durante la zafra 2001/2002, se sacrificaron 677.900 cabezas de las cuales el 44% corresponden a los meses de diciembre, enero y febrero, lo que demuestra la marcada estacionalidad de la oferta. La baja cantidad de operaciones registradas se debe a que un alto número de animales se destina para consumo de las ganaderías, la faena clandestina y sin tránsito federal y el abigeato. La oferta registrada corresponde generalmente a corderos livianos de menos de 13kg peso canal, mientras que para consumo de ganaderías predominan las categorías de más de un año de edad, con pesos canal entre 15 a 30kg. Las exportaciones ovinas durante 2001 fueron de 1.165tn en concepto de carcasas o canales, cuartos y piernas, principalmente congeladas, a un valor entre U$S 1,7 a U$S 3.2/Kg., según corte y con hueso o deshuesado, lo que generó un ingreso, valor FOB, de U$S 2.397.817. Los países compradores más importantes fueron España, Gran Bretaña, Bélgica e Italia. Las exportaciones a España representaron aproximadamente el 50%. Respecto a las importaciones, durante el año 2000 se importó un total de 1.683tn. La paridad cambiaria favoreció el ingreso de carnes de otros países hasta el año 2002, con la rotura de la paridad, se comenzó a sustituir las importaciones registrándose durante el año 2002 operaciones por solamente 327tn.

Cueros ovinos: se exportaron durante 2002, 1.249tn, 67,5% (843tn) como cueros secos, 20,4% (255tn) curtidos y 12,1% (151tn) terminados, lo cual generó un ingreso, valor FOB, de U$S 10.394.000. El 87,9% de lo exportado fue de bajo valor agregado.

Consideraciones finales: la falta de continuidad o ineficientes políticas agropecuarias para el crecimiento y desarrollo del sector, la alta presión fiscal, la crisis internacional de la lana y el incremento de la competitividad de Australia y Nueva Zelanda, fueron los principales factores que provocaron la involución de la producción ovina.

BIBLIOGRAFIA

- Base Estadística de la Federación Lanera Argentina (FLA).
- Base Estadística del Servicio Nacional de Sanidad Animal (SENASA).
- Boletines de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación (SAGPyA).
- Calvo, C. Ovinos, Orientación Gráfica Editora, Argentina, (1982).
- Lanas. Seminario Científico Tecnológico Regional. Ed. Hemisferio Sur. Uruguay, (1985).
- Primera Jornadas Nacionales sobre Carnes, INTA, (1999).
- Primer Congreso Argentino de la Lana. UCA, (1974).
- Producción y Comercio de Lanas, SEAyG, (1975).
- Producción Lanera, Crisis y Despegue, Federación Lanera Argentina, (1986).
- Producción, Industrialización y Comercialización de Carne Ovina, INTA, (1994).

EL SECTOR OVINO EN LA ARGENTINA. II. COMPETITIVIDAD Y PERSPECTIVAS

M. V. MBA Carlos Alberto González
Santamarina 576 - 7000 Tandil - Argentina
E. Mail: albpg@vet.unicen.edu.ar

INTRODUCCION

Hacia fines de la década de los noventa, los diferentes actores que componen las cadenas agroalimentarias y/o agroindustriales del sector ovino y los gobiernos nacional y provinciales, se sentaron en una mesa común y analizaron el destacado rol que tuvo la producción ovina en la gesta del país y los factores que provocaron su decadencia. Asimismo, se evaluó su potencial y la importancia que tendría, si se revirtiera la situación, por la diversidad de materias primas que produce, lanas, carnes, cueros y el gran abanico de posibilidades de obtener numerosos productos semi e industrializados, como fuente generadora de valor agregado, divisas y de empleo. Ante este panorama, se comenzó a trabajar en forma participativa para realizar un exhaustivo diagnóstico de situación y propuestas de acción las cuales deberían ser amparadas por una ley nacional de larga vigencia, que respaldara las políticas que surgieran para todo el sector (producción primaria, industria y mercado). El objetivo del trabajo es realizar un análisis sucinto de las fortalezas y oportunidades y las debilidades y amenazas (FODA) del sector para evaluar su competitividad y perspectivas.

MATERIALES Y METODO

Para realizar el análisis FODA y las acciones que se deberían desarrollar para revertir la situación, se tuvieron en cuenta la información secundaria y la generada en los talleres de trabajo participativos de los actores del sector, que se realizaron en diferentes regiones del país de los cuales surgieron los Programas Provinciales, necesarios para adherirse a la Ley Nacional para la Recuperación de la Ganadería Ovina 25.422. Si bien cada región tiene algunas características particulares, en el presente se abordaron en general los aspectos comunes a todas ellas. Se aplicaron los conceptos de la Cadena de Valor de Porter, citado por Serra y Kastika (1992) y la Guía para la evaluación Empresaria de Settembrino (1998).

RESULTADOS Y DISCUSION

Fortalezas:

* El país cuenta con 3.761.274Km², de los cuales, 2.400.000 son aptos para agricultura y ganadería.
* Existen gran cantidad de productores dedicados a la producción ovina que si bien han reducido su stock, aún mantienen la cultura ovejera.
* El ovino se complementa muy bien con otras actividades agropecuarias lo que permite reducir costos fijos, capacidad ociosa y diversificar la producción a efectos de disminuir riesgos y obtener ingresos en diferentes momentos del año.
* Los sistemas en general son extensivos predominando el pastoreo en campos naturales lo que facilitaría en el futuro las certificaciones de productos orgánicos. Se respeta en general el bienestar animal y la preservación del medioambiente, salvo en algunos campos de la Patagonia donde por el sobrepastoreo se forman médanos.
* El país cuenta con un importante material genético de razas lanera (Merino) y doble propósito (Corriedale y Romney Marsh), aunque may bajo de razas carniceras.
* Existen tecnologías disponibles y técnicos capacitados para su transferencia y mejoramiento de los índices productivos económicos de todos los procesos.

* Sus productos, cuero, lana y carne brindan un enorme potencial por las posibilidades de aplicar de valor agregado mediante procesos de semi e industrialización.
* La Argentina posee, en diferentes localidades plantas frigoríficas, industrias textiles aunque muchas de ellas cuentan con alta capacidad ociosa y medio nivel tecnológico.

Oportunidades:

* El tipo de cambio y la variación de la relación insumo:producto favorece el desarrollo del mercado externo e interno, por sustitución de importaciones.
* Los niveles de consumo de carne ovina en los grandes centros urbanos del país como Capital Federal y Gran Buenos Aires, es de 0.5Kg/hab./año, tan bajo, que permitiría incrementar el mercado si se desarrollaran las acciones de marketing correspondientes.
* Durante el año 2002 se abrieron 53 mercados en el exterior, para las carnes. La UE nos asignó una cuota de 23.000tn y solo cumplimos con menos del 10%.
* En el año 2001 se promulgó la Ley Nacional 25.422 para la recuperación de la ganadería ovina la cual contempla el desarrollo de todo el sector. Para tal fin, se asignó un presupuesto de 20 millones de pesos anuales durante un período de 10 años. Contempla programas de diferente naturaleza para: recomposición de majadas, mejoramiento genético, sanidad animal, protocolos de calidad, proyectos productivos asociativos, asistencia técnica, infraestructura y logística, gerencia comercial, prefinanciación comercial, desarrollo y promoción comercial, capacitación, desarrollo tecnológico, subsidios de tasa de interés, información estratégica, entre otros.
* Recientemente se han establecido políticas para el desarrollo de sistemas asociativos, integraciones horizontales y verticales y apoyo a las pequeñas y medianas empresas.
* Se está incrementando la demanda mundial de productos sanos de calidad, producidos en forma natural, ecológicos.
* Se ha despertado un creciente interés de los organismos internacionales de rever políticas tendientes a reducir la pobreza, preservar el medioambiente y aplicar valor agregado a la materia prima.
* Se están implementando algunas políticas para disminuir el éxodo de la gente del interior y de la zona rural a los grandes centros urbanos.
* El productor requiere menor inversión respecto a otras especies para incrementar el stock de los establecimientos y el recupero de capital invertido es mas rápido.

Debilidades:

* Individualismo, deficiente o nula integración horizontal y/o vertical y marcada competitividad entre los eslabones que componen las cadenas.
* Desconfianza del sector privado por el sector público a la hora de implementar programas y/o proyectos de desarrollo.
* Falta de políticas crediticias, en el largo plazo, para el sector.
* Deficiente desarrollo del sector rural en servicios y aspectos sociales.
* Deficiente capacidad empresarial de los productores.
* Falta o insuficiente incorporación de tecnología de bajo costo lo cual provoca pobres índices de procreo y disminución de la rentabilidad.
* Atomización y estacionalidad de la oferta lo cual conlleva a altos costos de comercialización y ausencia de los productos cárnicos durante parte del año.
* Insuficiente desarrollo de marcas e implementación de protocolos de calidad, si bien existen marcas en desarrollo en la Patagonia, en la Mesopotamia y provincia de Buenos Aires.
* Falta de uniformidad y deficiencias de presentación de productos ya sea lana, carne y cueros.
* Presencia de predadores (zorros, pumas, jabalíes, perros cimarrones).
* Abigeato y faena clandestina.
* Falta de transparencia del mercado y de pagos diferenciales por calidad.

* Insuficiente incorporación de tecnología en el sector industrial, baja capacidad empresarial, económica y financiera para mejorar su competitividad y posicionamiento en el mercado nacional y/o internacional
* Insuficientes acciones de investigación y desarrollo de productos y mercados.
* Percepción negativa del consumidor por la carne ovina especialmente en los grandes centros urbanos.

Amenazas:

* Inseguridad de que las políticas iniciadas por los gobiernos y en consecuencia, los grupos de trabajo multidisciplinarios convocados para la recuperación perduren y/o mantengan una visión compartida. Los riesgos son, falta de continuidad de las políticas, altos costos burocráticos, errores en la asignación de recursos, entre otros.
* Situación socio, política y económica del país.
* Depresión del poder adquisitivo de la población.
* Altos precios relativos de la carne ovina y el desarrollo tecnológico de los productos sustitutos.
* El incremento de la competitividad de otros países como Australia, Nueva Zelanda a través de sus acciones de mejoramiento de la calidad, investigación y desarrollo de productos y mercados, entre otras.
* Posible reducción de los cupos de exportación por no cumplir con las cuotas asignadas.

Consideraciones finales: del análisis FODA surge que si bien la Argentina posee importantes y numerosas fortalezas y oportunidades para el crecimiento y desarrollo del sector ovino, también presenta numerosas y graves debilidades y amenazas. Las restricciones estructurales y culturales, la inseguridad de cumplimiento de las políticas, en el mediano y largo plazo e ineficiencia a la hora de implementar programas y/o proyectos de desarrollo, Leyes y/o políticas, son factores de alto riesgo que se deberían solucionar para que todo el esfuerzo realizado permita aprovechar el potencial y nobleza de la especie y el país. En una economía globalizada, altamente competitiva y dinámica no se perdonará la indiferencia, la pasividad e ineficiencia, este comportamiento, puede incrementar aun más la marginalidad, exclusión y dependencia. Se concluye que la competitividad del sector es baja y su futuro una incógnita.

BIBLIOGRAFIA

- Carne Ovina Diferenciada, Memorias del Seminario Taller sobre Producción, Industrialización y Comercialización de carne Ovina, INTA, (1994).
- Lanas. Seminario Científico Tecnológico Regional. Ed. Hemisferio Sur. Uruguay, (1985).
- Memorias del VI Curso de Actualización en Producción Ovina. INTA, (2000).
- Primera Jornadas Nacionales sobre Carnes, INTA, (1999).
- Producción y Comercio de Lanas, Secretaría de Estado de Agricultura y Ganadería, (1975).
- Primer Congreso Argentino de la Lana, Pontificia Universidad Católica Argentina, (1974).
- Producción Lanera, Crisis y Despegue, Federación Lanera Argentina, (1986).
- Serra, R. y Kastika, E. Reestructurando empresas. Ed. Macchi. (1992).
- Settembrino, H. Economía Aplicada a la Empresa. Facultad de Ciencias Económicas UNCPBA, Argentina (1998).
- Talleres de Trabajo para realizar el diagnóstico de situación del sector ovino y elaborar los Programas Provinciales para incorporarse a la Ley Ovina 25422, (1999 – 2002).

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN, DISTRIBUCIÓN Y CONTROL DE CARNES DE VACUNO CERTIFICADAS

María Teresa Maza, Víctor Ramírez A.
Departamento de Agricultura y Economía Agraria. Universidad de Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

En el consumo de carne como en el de otros productos alimentarios se manifiesta con fuerza una tendencia en los últimos años hacia el consumo de alimentos de calidad. La carne, que tradicionalmente se ha comercializado como un producto indiferenciado y a granel, no ha sido ajena a las nuevas demandas por parte del consumidor y crecientemente se la intenta diferenciar mediante marcas de calidad que suponen un valor añadido para el producto y un mecanismo de garantía para el consumidor (Vignali et al., 2001; Wachenheim et al., 2000).

Esta creación de marcas se ha visto acelerada, entre otros factores, por las distintas crisis alimentarias de los últimos años en el sector cárnico ("vacas locas", "pollos belgas", "fiebre aftosa" entre otras), así como, por los cambios en los hábitos de compra con una mayor cuota de mercado de supermercados e hipermercados donde, en ocasiones, el lineal sustituye a la carnicería tradicional.

En este proceso de instauración de marcas básicamente se han desarrollado dos tipos en el sector de carne fresca (Fernández et al., 2001). Por una parte, empresas con cierto tamaño han desarrollado marcas propias (privadas) que garantizan el producto comercializado con su propia reputación. Por otra, las marcas geográficas que, amparadas por una garantía pública, hacen referencia a ciertos ámbitos geográficos relacionándolos con una calidad superior del producto.

La utilización de marcas como medio de diferenciar el producto es útil siempre y cuando consiga crear en el consumidor una cierta imagen de marca que haga efectiva la diferenciación. De lo contrario la reacción puede ser de desconfianza o al menos de desconocimiento (Beristain, 2002).

El objetivo del presente trabajo es averiguar las diferencias que existen en los sistemas de producción, distribución y control de carne de vacuno acogida a dos tipos de marcas que tienen en común estar garantizadas por un tercero y hacer referencia a un espacio geográfico: Indicaciones Geográficas Protegidas (IGPs) y Marcas de Garantía.

METODOLOGÍA

Se han estudiado las principales marcas de carne de vacuno presentes en el mercado aragonés realizando una tipología acorde a la Ley de Marcas española de 2001, que diferencia entre:

A) Marcas individuales, en este caso de empresas transformadoras o distribuidoras (Por ejemplo: Fribín Selección, Ternera Hipercor y Villa del Monte)
B) Marcas colectivas (Pirinera).
C) Marcas garantizadas por un tercero. En este caso la solución puede ser pública o privada. En el caso de la garantía privada una entidad certificadora garantiza a los consumidores que los productos de una determinada empresa poseen un nivel de calidad adecuado, teniendo, al menos en el sector cárnico un carácter complementario.

Esta clasificación, no obstante, no es excluyente en el sentido de que al consumidor pueden llegar varias señales de calidad en un mismo producto de forma simultanea. La diferenciación se ha realizado entre las marcas garantizadas por un

tercero que comercializan su producción amparándose en el prestigio de algún nombre geográfico de sus inputs o proceso productivo.

Se han analizado los pliegos de condiciones de las tres IGPs con mayor importancia en el mercado de vacuno aragonés (Ternera Gallega, Ternera de Ávila y Ternera del Pirineo Catalán), así como de dos Marcas de Garantía de las Administraciones Autonómicas de Aragón (C de Calidad) y Cataluña (Marca Q). Los distintos capítulos de los pliegos se han subdividido en condiciones y se ha recogido esquemáticamente su requerimiento o no en las distintas marcas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los principales resultados aparecen en la tabla 1.

Tabla 1. Condiciones estipuladas en los Pliegos de las Marcas de Garantía e Indicaciones Geográficas Protegidas en estudio:

	Condiciones	*G. 1*	*G. 2*	*IGP 1*	*IGP 2*	*IGP 3*
Características del ganado:	- Procedencia o zona delimitada	+	+	+	++*	+
	- Según producción	n,c/ce	n,c/ce	n,c,ce	n,c,ce	n,c,ce
	- Según raza de origen	-	-	+	++*	+
	- Tipología del animal comercializable	a/b	c	a/b/e	c	g/b/f
Identificación de animales	- Tipo de identificación	+	+	+	+	+
	- Momento de colocación	+	+	+	+	+
Saneamiento y medidas profilácticas	- Productos aplicados	+	-	-	+	-
	- Tiempo de supresión	-	+	-	+	-
Estabulación	- Régimen de estabulación	+	+	-	+	-
	- Densidad de animales	-	+	-	+	-
Alimentación	- Ingredientes autorizados	+	+	+	+	+
	- Ingredientes prohibidos	+	+	+	+	+
	- Períodos de supresión de aditivos	+	+	-	-	-
Transporte	- Condiciones del transporte	+	+	-	+	-
	- Condiciones de los vehículos	-	-	+	-	-
	- Identificación del ganado	+	+	+	-	-
Área de elaboración:	- Determinación del área	+	+	+	+	+
Estabulación pre-sacrificio	- Ayuno obligatorio	+	+	-	-	-
	- Separación del resto del ganado	+	+	+	+	-
	- Perfecta identificación	-	+	+	+	+
Sacrificio y faenamiento	- Faenamiento diferenciado	+	+	+	+	+
	- Trazabilidad	+	-	+	+	+
Oreo	- Período mínimo	+	+	-	+	-
	- Tª máxima en canal	+	-	-	-	-
Almacenamiento de canales o piezas	- Prohibición de congelación	-	+	+	+	+
	- Período máximo de conservación	-	+	-	-	-
	- Conservación diferenciada de otros	-	-	+	+	+
Sellado e identificación de las canales, medias y cuartos de canal	- Lugar de identificación	+	+	++	-	+
	- Tipo de identificación	+	+	++	++	+
	- Agente que identifica	-	-	+	-	+
	- Referencia a piezas	+	+	-	+	+
Salas de despiece	- Despiece exclusivo	+	-	+	-	+
	- Almacenamiento diferenciado	+	-	+	-	+
Maduración de las carnes	- Período mínimo	+	+	++	+	++
	- Período máximo	-	-	-	-	-
	- Condiciones de Tª y H.R.	+	-	-	-	-
Venta de carnes	- Identificación de las piezas	+	+	+	+	+
	- Exposición diferenciada en la venta	+	+	-	-	-
	- Bandejas etiquetadas o identificadas	+	+	+	-	+
Características de la canal	- Conformación	SEUR 2/3	EUR 2/3/4	SEUR 2/3	EUR 2/3/4	-
	- Estado de engrasamiento					-
	- pH de canal en el tiempo	+	-	+	+	-
	- Pesos mínimos	-	+	-	+	-
	- Pesos máximos	-	+	-	-	-
Características de la carne	- Color carne	+	-	+	+	+
	- Color grasa	+	-	+	+	+
	- Grado jugosidad	+	-	+	-	+
	- Grado de infiltración grasa	+	-	+	+	+
	- Características del músculo	-	-	+	-	+

Inscritos en registros de la marca	-	Fábricas de piensos	-	+	-	-	-
	-	Ganaderos	+	+	+	+	+
	-	Cebaderos	+	+	+	-	+
	-	Mataderos	+	+	+	+	+
	-	Salas de despiece	+	+	+	+	+
	-	Puntos de venta	+	+	-	+	-
Controles internos	-	Ganaderos	+	+	+	+	+
	-	Cebaderos	+	+	+	+	+
	-	Mataderos	+	+	+	+	+
	-	Salas de despiece	+	+	+	+	+
	-	Detallistas	+	+	-	+	-
Controles externos	-	Auditores externos	+	+	+	+	-

G.1 y G.2: Marcas de Garantía 1 (C de Calidad (Aragón)) y 2 (Marca Q (Cataluña)). (/ = o; , = y).
IGP 1, 2, 3: Indicaciones Geográficas Protegidas 1 (Ternera Gallega), 2 (Ternera de los Pirineos Catalanes) y 3 (Carne de Ávila) +: Definido; -: No definido; ++: A definir por el Consejo Regulador. ++*: Definido y ampliable por el Consejo Regulador. n: Nacidos; c: Criados; ce: Cebados; a: Terneros destetados o no; b: Añojos; c: Amamantamiento/ crecimiento/ engorde; e: Cebón. f: Novillos; g: Terneros no destetados. T°: Temperatura; H.R: Humedad Relativa.

Las diferencias consideradas son todas aquellas que se cumplen en un grupo y no en el otro en todos los casos o viceversa, siendo principalmente las siguientes:

- A pesar de que el Reglamento Comunitario 2081/92 que regula las IGP's no lo exige, en las Indicaciones estudiadas se hace clara referencia a que los animales han de ser nacidos, criados y cebados en un determinado lugar. También se indica en las mismas de forma detallada las razas de origen del ganado. Por el contrario las Marcas de Garantía solo hacen alusión a animales criados o cebados en un determinado lugar, exigiendo en el caso de las razas solamente su aptitud cárnica.

- En el capítulo de alimentación los períodos de supresión de los suplementos medicamentosos se indican en los pliegos de condiciones de las marcas de garantía y no en las IGPs. Algo similar ocurre con el ayuno obligatorio en la estabulación pre sacrificio puesto que se explicita claramente en las marcas de garantía y no se indica en las IGPs.

- En el almacenamiento de las canales y piezas solo las IGPs exigen la conservación diferenciada de otras no amparadas por la Indicación. En las ventas de carnes, son solo las Marcas de Garantía las que exigen una exposición diferenciada de otro tipo de carnes no incluidas en la marca.

En general, las diferencias son pocas y es probable que el resultado obtenido dependa de la muestra tomada; sin embargo, a la luz de los resultados obtenidos la conclusión es similar a la presentada por otros autores (Gómez y Caldentey, 1998) en el sentido de que las Marcas de Garantía están siendo utilizadas por las Administraciones Autonómicas para aplicarlas a casos que conceptualmente responderían a Denominaciones de Origen Protegidas o Indicaciones Geográficas Protegidas. La menor complicación administrativa podría ser el motivo que anima su utilización.

REFERENCIAS BIBILIOGRÁFICAS

- Beristain, J. (2002). Distribución y Consumo. 12(64): 35-45.
- Fernández, M.; González, M.; Arruñada, B. (2001). IV Congreso Nacional de Economía Agraria. Pamplona/Iruña 19-21 de septiembre. U. P. Navarra.
- Gómez, A.; Caldentey, P. (1998). III Congreso Nacional de Economía Agraria. Lérida, Septiembre 1998.
- Vignali, C.; Gómez, E.; Vignali, M.; Vranesevic,T. (2001a). British Food Journal 103(7): 460-478.
- Wachenheim, C.; Alonso, C., Dumler. (2000). Journal of Food Products Marketing 6(1): 53-79.

DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA INTEGRAL DE PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN CONJUNTA DE CORDERO DE CALIDAD EN LA ISLA DE MALLORCA (ISLAS BALEARES). RESULTADOS PRELIMINARES

M. Joy[1], J. Cifre[2], R. M. Vera, A. Rigo

Institut de Biologia Animal de Balears, S.A. C/ Eperanto nº 8. Son Ferriol. 07198-Palma de Mallorca. [1]Unidad de Tecnología en Producción animal. SIA-DGA. Apdo 727. 50.080-Zaragoza. [2]Universitat de les Illes Balears. Departament de Biologia. Edificio Guillem Colom. Cra. Valldemossa km 7.5, 07122 Palma de Mallorca

INTRODUCCIÓN

Las Illes Balears presentan un censo ovino de 329.587 cabezas (Lucas, 2002), estando el 90% localizado en la isla de Mallorca. A pesar de la importancia relativa del ganado ovino de carne en el conjunto de la ganadería de las Islas, su producción es poco rentable debido a la baja productividad media de los rebaños y al bajo precio percibido por el ganadero en la venta del cordero. Tras el estudio y discusión de la situación del sector ovino en la Comunidad Autónoma (Cifre *et al.*, 2002) se concluyó que para conseguir una mejora era imprescindible concentrar y organizar al sector productivo y así hacer frente a la creciente demanda de productos de calidad que se registra en todo el archipiélago. Dicha vía de mejora tiene dos objetivos: repercutir positivamente sobre la economía de las explotaciones y ofrecer al consumidor un producto de calidad garantizada y producido en la misma zona geográfica de venta. La finalidad del presente trabajo es describir el esquema productivo adoptado y presentar los primeros resultados tras dos años de funcionamiento ininterrumpido.

MATERIAL Y MÉTODOS

La experiencia se inició en febrero del año 2000 con un conjunto de 6 ganaderos socios de la Cooperativa Pagesa de Pollença y un total de 1650 ovejas reproductoras. El sistema de producción de corderos era el mismo para todos los ganaderos: extensivo en las épocas de pasto y semi-extensivo en las épocas de escasez de alimento. El manejo de los corderos era el tradicional de Mallorca: los corderos pastoreaban junto a las madres hasta su venta siempre que la disponibilidad forrajera fuera suficiente, mientras que cuando ésta escaseaba eran destetados a los 45-50 días y alimentados con pienso y paja a voluntad. La venta conjunta de los corderos se inició en mayo del 2000. Esta venta se realizaba a través de la Cooperativa, la cual se encargaba además de exigir al ganadero la producción de corderos según se describe en el Reglamento de producción y comercialización (Tabla 1) así como de buscar puntos de venta interesados en su producto y con garantía suficiente de calidad. Los corderos eran clasificados según su edad, peso y condición corporal para ser vendidos en función de la categoría y demanda en una de las dos vías de comercialización de la Cooperativa. Una vía comercial era la denominada **común**, en la que la Cooperativa vendía las canales a precio de mercado directamente a carnicerías, evitando todos los intermediarios habituales que presenta el esquema comercial clásico en la isla de Mallorca. Todos los corderos que no cumplían los requisitos exigidos en el Reglamento de calidad o el exceso de producción que se producía en algunos momentos puntuales del año eran comercializados de esta manera. La segunda vía comercial, y la más importante, era la de **calidad,** en la que los destinatarios del cordero eran restaurantes y carnicerías seleccionados previamente que se comprometían a servir exclusivamente cordero de calidad de la Cooperativa Pagesa de Pollença. Para este tipo de comercialización, al inicio de la experiencia se estableció un contrato entre la Cooperativa y cada establecimiento cliente, en el cual a principio de año se

negociaba tanto las condiciones de trazabilidad y el precio constante para todo el año.

Para llevar a cabo dicha estructura de comercialización se puso en marcha el control individual de los corderos al nacimiento, mediante un crotal identificativo de la explotación y del individuo, que se registraba junto con la fecha de nacimiento y sexo en la base de datos del proyecto. Una vez que los corderos eran clasificados para su sacrificio, se transportaban al matadero comarcal. Durante el sacrificio de los animales una persona de la Cooperativa y un ganadero estaban presentes con el objetivo de controlar la cadena y poder identificar la canal en relación al número de crotal del animal vivo y asegurar la trazabilidad hasta el punto comercial. Esto sólo se realizaba cuando se trataba de canales vendidas vía calidad. Al día siguiente la Cooperativa, con la ayuda de los ganaderos, distribuía las canales y los datos del animal vivo y su canal a sus compradores, acortando la cadena de venta y distribución.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de corderos nacidos durante el primer y segundo año fueron similares (1982 y 1983) pero la proporción de corderos vendidos a través de la cooperativa fue mucho más elevada en el segundo año (87%) que en el primero (64%). La comercialización conjunta provocó un mayor control del ganado, una reducción de la cadena de venta y una disminución de la fluctuación de los precios de la canal ovina. Todo ello permitió una reducción del número de corderos muertos/desaparecidos y las ventas a particulares, la venta del cordero en el momento óptimo y un precio percibido por el ganadero un 40% superior al habitual, lo que era inalcanzable de forma individual. En cuanto a las fluctuaciones anuales del precio del cordero sólo se pudieron evitar parcialmente ya que la venta de las canales vía común tenía que obedecer a los precios del mercado.

La venta total de corderos a través de la Cooperativa fue de 1272 y 1723 para el primer y segundo año respectivamente, de los cuales un 67.5% en el primer año y un 72% en el segundo año eran comercializados vía calidad. Las ventas del cordero lechal, medio, grande y común-grande fueron un 23.8, 20.1, 23.6 y 32.5 % del total de animales vendidos en el primer año. En el segundo año estos porcentajes se modificaron, incrementándose la venta de lechal (32.8%) y de medio (26.8%), mientras que las ventas del cordero grande de calidad (12.4%) y el común-grande (28.0%) disminuyeron (Tabla 2). Los ingresos siguieron la misma tendencia, suponiendo las cuatro categorías entre el 22 y el 28% del total en el primer año, mientras que en el segundo la categoría lechal y medio supusieron cada uno de ellos un 30% de los ingresos totales, en detrimento de los correspondientes a la categoría grande (15%). Este comportamiento diferencial obedece a la mejor definición del producto deseado por parte de los clientes, que evolucionan hacia una canal joven, tierna, de reducido tamaño y procedente de una zona geográfica cercana al punto de venta, como son el cordero lechal y el medio. Este hecho favorece la estrategia empresarial hacia los productos de calidad descrita por Sierra *et al.* (2002) y que en este caso aprovechan los ganaderos a través del cooperativismo para mejorar la rentabilidad de sus explotaciones. Si se comparan los ingresos procedentes de la venta a través de la Cooperativa frente al supuesto teórico de una venta individual por parte de los ganaderos se observa un incremento notable a favor de la venta conjunta como consecuencia del mayor precio del producto de calidad y del acortamiento de la cadena de venta y distribución. Así cuando se inició la experiencia los ganaderos vendían los corderos a 48.08€/unidad

mientras que a través de la Cooperativa dicho precio pasó a ser de 66.11€/unidad, lo que supone un incremento del 38%.

En resumen podemos decir que con la puesta en marcha de esta experiencia piloto los ganaderos consiguieron un mayor control de la explotación, acortar la cadena de venta y evitar el trato con intermediarios a los que estaban supeditados cuando la venta se hacia de forma individual. Todo ello se traduce en una mejora de la rentabilidad de la explotación y de gestión de las mismas, lo que redunda en la mejora continua de ellas. Finalmente, el consumidor conoce la procedencia de la carne de ovino que compra debido a la trazabilidad del animal, con un control desde el nacimiento hasta su distribución en los puestos comerciales. Todo ello se refleja en el éxito de proyecto piloto con el incremento de ganaderos participantes (20), animales controlados (4295 ovejas reproductoras), animales vendidos anualmente (5000), puntos de venta, así como la solicitud de nuevos ingresos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de la Cooperativa Pagesa de Pollença y la Conselleria d'Agricultura i Pesca del Govern de les Illes Balears.

Tabla 1. Condiciones exigidas para la venta de corderos de calidad y común a través de la Cooperativa Pagesa de Pollença.

Categoría	Peso canal (kg)	Edad (días)	Primer año (€/kg)	Segundo año (€/kg)
Calidad				
Lechal	< 7	< 45	8.41	8.41
Medio	8 -10	< 75	6.61	6.61
Grande	11 -13	< 100	5.41	5.71
Común	> 11	≥ 100	4.47	5.19

Tabla 2. Número de corderos vendidos, kg de canal, precio (€/kg de canal) de las ventas realizadas a través de la Cooperativa o en el supuesto de la venta individual a mercado (No Cooperativa) durante los dos primeros años de funcionamiento del proyecto.

Año	Primer año				Segundo año			
Tipo venta	Calidad			Común	Calidad			Común
Venta	**Lechal**	**Medio**	**Grande**	**Grande**	**Lechal**	**Medio**	**Grande**	**Grande**
Nº corderos	302	256	300	414	566	461	213	479
Kg canal	1767.2	2233.5	3472.3	4057.8	3416.4	4334.2	2495.6	4449.5
Cooperativa (venta real)								
€/kg canal	8.41	6.61	5.41	4.47	8.41	6.61	5.71	5.19
No Cooperativa (venta teórica)								
€/kg canal[1]	7.08	4.69	4.54	4.54	7.57	5.22	5.06	5.06
% incremento[2]	18.8	40.9	19.16	-1.5	11.1	26.6	12.6	2.6

[1] Precio medio de mercado de las canales de ovino proporcionado por la Conselleria d'Agricultura i Pesca del Govern de les Illes Balears. [2] Porcentaje del incremento de los ingresos a través de la Cooperativa en relación a la venta individual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cifre J., Bonafé J., Buades M., Company G., Galmés J., Joy M., Mestre A., Panadés G., Solivellas M., Vives M. A., 2002. I Congrés Rural, documents de treball. Monografies de la Conselleria d'Agricultura i Pesca M2. Govern de les Illes Balears.

Lucas, A. M. 2002. Monografies de la Conselleria d'Agricultura i Pesca M1. Govern de les Illes Balears. 282pp.

Sierra I., Gil J.M., Pérez P., 2002. Producción ovina y caprina, XXVII SEOC: 1129-1131

ESTRUCTURA DE PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES DE CARNE DE CORDERO EN CASTILLA-LA MANCHA

Bernabéu, R.; Tendero, A.; Olmeda, M.; Castillo, S.
E.T.S. Ingenieros Agrónomos (UCLM). 02071 Albacete

INTRODUCCIÓN

Los mercados cárnicos se caracterizan por incluir dentro de sus principales preocupaciones, la seguridad alimentaria, entendida como la preocupación de los consumidores por la influencia que su alimentación tenga sobre su salud (Sánchez *et al*, 2001a) y además, por ser unos mercados maduros, saturados y con un crecimiento lento, y que presentan un gran efecto sustitución ya sea entre carnes de distintas especies o bien entre las distintas razas de una especie, por lo que da lugar a un mercado muy competitivo en donde una de las formas, si no la única, para competir pasa por la diferenciación de la producción cárnica mediante los distintivos de calidad.

En este sentido, y con el objetivo de competir en el mercado de carnes frescas de cordero y de incrementar su consumo, se creó la Denominación Específica (D.E.) *Cordero Manchego* (Consejería de Agricultura y Medio Ambiente, 1995).

Y, debido a que el consumo de carne de cordero respecto a otros tipos de carne, en general, es muy reducido, el objetivo que se plantea el presente trabajo pasa por determinar cuáles son las preferencias de los consumidores respecto a la compra de carne de cordero. El fin último del conocimiento de la estructura de preferencias del consumidor de carne de cordero no es otro que pueda ser utilizado por las empresas en la elaboración de sus estrategias comerciales.

MATERIAL Y MÉTODOS

La fuente de información utilizada proviene de entrevistas personales a una muestra representativa de compradores habituales de alimentos para su consumo en el hogar, residentes en Albacete capital. La encuesta fue realizada en los meses de agosto, septiembre y octubre de 2001 sobre una muestra aleatoria, a personas que se disponían a comprar en tiendas, supermercados y centros comerciales. Se realizaron 309 encuestas. El error máximo cometido no supera el 5,7%, para un nivel de confianza del 95,5% (k = 2), bajo el supuesto de máxima indeterminación (p=q=50%). Con anterioridad al trabajo de campo se realizó un cuestionario previo a 15 personas.

El análisis de los datos se realizó mediante la técnica de Análisis Conjunto (Green y Rao, 1971). Las utilidades estimadas del análisis conjunto se realizaron a través de mínimos cuadrados generalizados.

Los atributos y niveles seleccionados en la definición del producto carne de cordero, en función de estudios similares efectuados por Sánchez *et al.* (2001a; 2001b) y adaptados a los tipos comerciales en Castilla-La Mancha, son: *precio* (menos de 9,02 €/kg, entre 9,02 €/kg y 12,02 €/kg y más de 12,02 €/kg), *denominación específica* (sí, no), *procedencia* (Castilla-La Mancha, nacional e importada) *y tipo* (lechal, ternasco y cebo).

Con estos cuatro atributos y sus ocho niveles se obtendría un número elevado de perfiles posibles (54), por lo que se eligió un diseño factorial fraccionado pues permite, con una muestra de los perfiles anteriores, mantener la eficiencia de la selección y la evaluación de la importancia relativa de los atributos del producto. Para ello, se utilizó el procedimiento *Orthoplan* que reduce las posibilidades a solo nueve (Cuadro 1), con el fin de calibrar la influencia individual de cada uno de dichos aspectos en la estructura de preferencias de los consumidores (Bretton-Clark, 1986). Una vez diseñado el conjunto de productos de carne de cordero hipotéticos, se les presentó al encuestado en forma de tarjeta, y éste los ordenó de acuerdo con sus preferencias, asignando un rango a cada tarjeta comprendido entre el uno y el nueve, considerando el uno como el producto menos valorado y el nueve como el mejor.

Cuadro 1
Productos hipotéticos expuestos a los encuestados

PRODUCTO	PRECIO (€/kg)	D.E.	PROCEDENCIA	TIPO
1	>12,02	NO	Importación	Lechal
2	>12,02	SI	CLM	Ternasco
3	9,02-12,02	SI	Importación	Ternasco
4	9,02-12,02	SI	Nacional	Lechal
5	9,02-12,02	NO	CLM	Cebo
6	<9,02	SI	Importación	Cebo
7	<9,02	SI	CLM	Lechal
8	>12,02	SI	Nacional	Cebo
9	<9,02	NO	Nacional	Ternasco

La especificación del modelo de análisis conjunto parte de la hipótesis de que las preferencias de las personas entrevistadas, o su valoración global de los productos que forman parte de la encuesta, se obtiene a partir de las puntuaciones individuales de cada atributo, de tal manera que la suma de dichas puntuaciones genera la valoración global (Steenkamp, 1987). Se partió de un modelo aditivo ya que explica, en casi todos los casos, un porcentaje muy elevado (de entre el 80% ó 90%) la variación de la preferencia de los individuos (Hair *et al.*, 1992). Su formulación es:

$$\text{Valoración} = \beta_0 + \sum_{i=1}^{3} \beta_i D_{1i} + \sum_{j=1}^{2} \beta_j D_{2j} + \sum_{k=1}^{3} \beta_k D_{3k} + \sum_{l=1}^{3} \beta_l D_{3l}$$

donde $\beta_{1i}, \beta_{2j}, \beta_{3k}$ y β_{4l} son los *partworths* asociados a los niveles i (i=1,2,3); j (j=1,2), k (k=1,2,3), y l (l=1,2,3) de los atributos precio (1), denominación de origen (2), Procedencia (3) y tipo (4), respectivamente. Las variables *dummy* D_{1i}, D_{2j} y D_{3k} toman el valor 1 si el nivel correspondiente del atributo está presente y el valor 0 en el resto de los casos. Para la estimación de las utilidades y la importancia de los atributos se usó el procedimiento *Conjoint*. El procesamiento informático de la información se realizó con el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 9.0 (SPSS Inc., 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se estiman las utilidades de cada uno de los niveles de los atributos considerados (Cuadro 2).

Cuadro 2
Utilidad estimada para cada nivel de los atributos

ATRIBUTO	NIVEL	UTILIDAD
Precio	<9 €/kg	-1,9111
	9-12 €/kg	-2,2296
	>12 €/kg	-2,8029
Denominación Específica	Sí	0,1570
	No	-0,1570
Procedencia	Castilla-La Mancha	1,7653
	España	0,5572
	Extranjero	-2,3225
Tipo	Lechal	0,7545
	Ternasco	0,1372
	Cebo	-0,8917
Constante		7,2622

R (p <0,001)
Tau de Kendall (p<0,001)

La importancia relativa de cada atributo, calculada a partir de las utilidades de sus niveles mediante la siguiente ecuación:

$$I_a = \frac{\max U_i - \min U_i}{\sum (\max U_i - \min U_i)}$$

muestra que el atributo más valorado es la procedencia de la carne (51,3%), seguido del tipo comercial (25,9%), el precio (14,0%) y que tenga denominación específica (8,8%). Con los resultados del Cuadro 2, se pone de manifiesto que el producto preferido por los consumidores es el procedente de Castilla-La Mancha, de tipo lechal, con menor precio y con denominación específica.

CONCLUSIONES

Los principales atributos valorados en el consumo de carne de cordero son: la procedencia, el tipo, el precio y que la carne tenga denominación específica como garantía de calidad, por este orden. Respecto a la procedencia, el consumidor manifiesta su preferencia de que la carne de cordero sea de Castilla-La Mancha y que tenga Denominación Específica como sinónimo de garantía de calidad y que el tipo comercial sea de cordero lechal aún cuando dentro del Reglamento de la Denominación Específica Cordero Manchego el tipo comercial reflejado es tanto lechal como ternasco. Por otra parte, como cabría de esperar al igual que sucede en estudios similares, la utilidad del atributo precio disminuye cuando éste aumenta, es decir, los consumidores están dispuestos a consumir menores cantidades cuanto más alto es el precio.

En términos generales, las estrategias básicas a acometer estarán basadas en campañas de información al consumidor por parte del Consejo Regulador de la Denominación Específica *Cordero Manchego* en las que se resalte las características diferenciadoras y cualidades de la carne de cordero acogida a la Denominación Específica respecto a otras no acogidas con el objetivo de proyectar una imagen con garantía de calidad, tanto desde el punto de vista de que asegure al consumidor que la carne es producida con un sistema tradicional de manejo como desde el punto de vista sanitario, y así generar la confianza en el consumidor. Además, sería necesario que, aparte de la campaña de información, se realizase, mediante acuerdos o colaboraciones (generales, o en su caso, temporales) con establecimientos de venta masiva de alimentos, bien durante todo el año o bien en fechas puntuales (Navidad) de tal manera que puedan promocionar la carne de cordero manchego. Pero las labores de información a acometer no solamente deberían ir encaminadas a los escalones de la distribución y finalmente al consumo sino que deberían seguir haciéndose sobre los productores resaltando las ventajas que tiene el estar acogido bajo la D.E. respecto al incremento del valor añadido de su producción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bretton-Clark, 1986. *Conjoint Designer and Conjoint Analyzer, version 2.0.* Bretton-Clark.
- Consejería de Agricultura y Medio Ambiente, 1995. *Orden de 7 de julio por la que se aprueba el Reglamento de la Denominación Específica Cordero Manchego.* Diario Oficial de Castilla-La Mancha de 11 de julio. Toledo.
- Green, P.E; Rao, V.R., 1971. *Conjoint Measurement from Quantifying Judgemental Data.* Journal of Marketing Research, (8): 355-363.
- Hair, J.F.; Anderson, R.E.; Tathan, R.L., 1992. *Multivariate data analysis with readings.* New York: MacMillan, 2nd edition.
- Sánchez, M.; Sanjuán, A.; Akl, G., 2001a. *Diferencias en las preferencias de los consumidores de distintos tipos de cordero y ternera con distintivos de calidad.* IX Jornadas sobre Prod. Animal. ITEA: Zaragoza. Vol. Extra. Nº 22 (I). pp. 248-250.
- Sánchez, M.; Sanjuán, A.; Akl, G., 2001b. *El distintivo de calidad como indicador de seguridad alimenticia en carne de vacuno y cordero.* Economía Agraria y Recursos Naturales. Vol. 1. Núm. 1. pp. 77-94.
- SPSS, Inc., 1999. *SPSS Categories.* Version 9.0. Chicago.
- Steenkamp, J.B. 1987. *Conjoint measurement in ham quality evaluation.* Journal of Agricultural Economics, (38): 473-480.

ANÁLISIS COMPARATIVO DE COSTES EN EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHERO DE LA UNIÓN EUROPEA[a]

E. Reyes[1], M. J. Milán[1], J. Baucells[2], S. Calsamiglia[1]
[1]Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos, Universidad Autónoma de Barcelona
[2]Centro Veterinario de TONA

INTRODUCCIÓN

El sector productor de bovino de leche se enfrenta en la actualidad a una situación de incertidumbre provocada por la posible aplicación de los Reglamentos que se derivaron de los acuerdos de la "Agenda 2000", así como los que provengan de la reforma de la PAC que se está debatiendo en la actualidad. Todo parece indicar, que estos cambios en el marco legislativo tendrán como consecuencia una bajada en el precio de la leche cruda (CCE, 2002), que afectará a todo el sector lechero, fundamentalmente a los productores, que deben estar preparados para dar respuesta rápida a los mismos (Calcedo, 2002). Ante esta situación parece imperante la necesidad de evaluar la competitividad económica de las explotaciones productoras de leche, y su capacidad de respuesta. Todo en un marco en el que la economía está cada vez mas globalizada, lo que evidencia la necesidad que tienen los productores, no sólo de conocer su estructura productiva y sus costes de producción, sino que es imprescindible que éstos puedan ser comparados con los resultados obtenidos por otras zonas productoras.

El presente trabajo se plantea como objetivo conocer la estructura productiva y los costes de producción de la leche en explotaciones lecheras de la zona noreste de España y compararla con otras zonas productoras a nivel nacional e internacional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente trabajo se ha utilizado la metodología desarrollada por la Red Internacional de Análisis Económico Comparativo a nivel de granja (FAL-IFCN[b]), la cual cuenta entre sus colaboradores con 24 países miembros y un gran número de instituciones de investigación y asociaciones de productores. En el seno de la red se ha desarrollado una metodología estandarizada para el análisis comparativo de explotaciones de vacuno lechero, utilizando el modelo de análisis y simulación TIPICAL, el cual permite el manejo de bases de datos bajo unos mismos criterios metodológicos y conceptuales.

En Cataluña se recolectó la información en 3 explotaciones, referida al período contable 2001. Se adaptaron los cuestionarios de IFCN, se realizaron 5 visitas por explotación y se introdujeron los datos en el modelo TIPICAL. Posteriormente se envió toda la información a la red IFCN para realizar el análisis comparativo. En el presente trabajo se presentan los resultados obtenidos en estas 3 granjas comparándolos con otras 7 explotaciones de la UE (IFCN, 2002). Para la selección se utilizó el criterio de alta productividad por vaca (>8.500 kg de leche FCM[c]). Las granjas seleccionadas para la comparación están ubicadas: 2 en Holanda (NL-48, NL-90), 1 en España en la Comunidad Valenciana (ES-1050), 1 en Dinamarca (DK-200) y 3 en Suecia (SE-35, SE-100, SE-160).

Los indicadores utilizados para la comparación fueron el coste de producción por 100 kg de leche (FCM), en el que no se tiene en cuenta el coste de amortización de

[a] Trabajo financiado por el INIA (AE00-041)
[b] International Farm Comparison Network. Federal Agricultural Research Center, Braunswchweig, Germany
[c] Leche corregida por grasa al 4%

la cuota debido a la distorsión que produce entre explotaciones, y la estructura de costes totales de la explotación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sistemas de producción analizados tienen un alto nivel de adopción tecnológica. La mayoría practican la estabulación permanente y sistemas intensivos en el manejo de la alimentación. La superficie agrícola es utilizada mayoritariamente para producir cereales y gramíneas de corte. En las explotaciones con un menor número de animales, predomina la mano de obra familiar (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de las granjas seleccionadas

Granja	Nº de vacas	Superficie (ha)	Uso de la tierra (%)		Productividad kg/vaca/año (FCM[1])	Sistemas de alimentación	Mano de obra UTA	
			Gramíneas Forrajeras	Cereales Forrajeros			Asalariada	Familiar
NL-48	48	32	80	20	8900	Pastoreo, silos y piensos	0	2
NL-90	90	45	81	19	8600	Pastoreo, silos y piensos	0	3
ES-42	42	66	0	100	9500	Carro mezclador	0	3
ES-84	84	42	0	100	8900	Carro mezclador	1	1
ES-175	175	0	0	0	9900	Carro mezclador	3	0
ES-1050	1050	0	0	0	9700	Carro mezclador	26	0
DK-200	200	213	43	57	8800	Carro mezclador	0	4
SE-35	35	50	47	53	8700	Pastoreo, silos y piensos	0	2
SE-100	100	181	79	21	9800	Automatizado e individual	2	1
SE-160	160	212	46	54	9400	Automatizado e individual	4	0

[1]Leche corregida al 4% de grasa

Con respecto al coste de producción, todas las explotaciones seleccionadas cubrieron sus costes efectivos y generaron un beneficio neto positivo (Gráfico 1). Sin embargo, si se tienen en cuenta los costes totales, sólo 6 explotaciones lograron cubrirlos (NL-48, NL-90, ES-42, ES-84, ES-175, ES-1050). Las 4 explotaciones restantes no llegan a cubrir sus costes de oportunidad, causados por la remuneración de la mano de obra familiar y de los factores tierra y capital propios de la explotación. Se observa que las granjas españolas presentan un mayor margen en la relación costes totales/precio de la leche, debido tanto a unos menores costes totales incurridos, como a un mayor precio de la leche percibido durante este período.

Al analizar la estructura de costes (Gráfico 2), se observa que estos menores costes totales en las explotaciones españolas se deben fundamentalmente a que las explotaciones españolas son las que incurren en unos menores costes de mano de obra, debido tanto a que en España hay un nivel de salarios inferior como a la mayor productividad del factor trabajo que en tres explotaciones españolas tiene valores muy superiores a la media (ES-84, ES-175 y ES1050). También se observa que las explotaciones españolas presentan bajos costes de capital. Sin embargo, las explotaciones españolas presentan unos mayores costes de producción (costes variables) debido principalmente a la alimentación y al mayor porcentaje que representan los alimentos comprados, con relación a las demás explotaciones. Los costes de cuota presentan una alta variabilidad entre explotaciones, representando una partida importante en aquellas granjas que la han comprado recientemente y la están amortizando.

Gráfico 1. Coste de producción por 100 kg de leche (FCM)

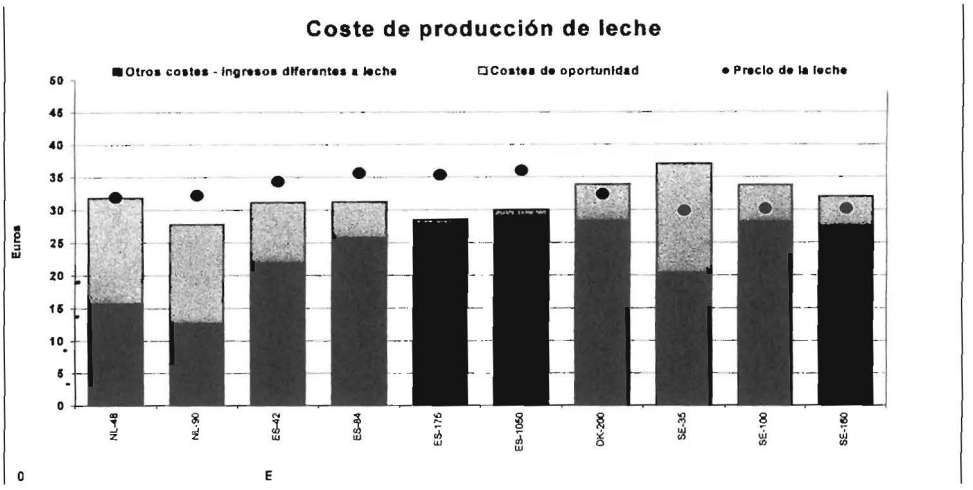
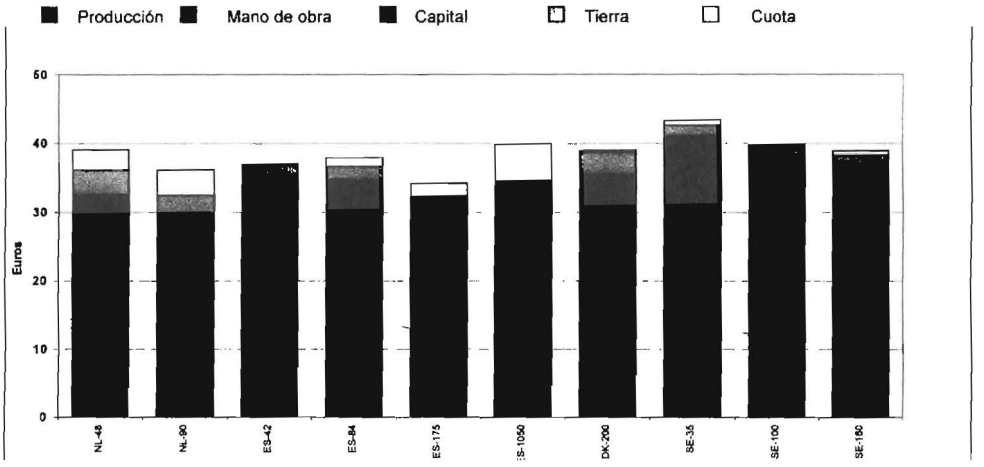


Gráfico 2. Estructura de costes por 100 kg de leche (FCM)



Bibliografía

Calcedo V. 2002. La organización Común de Mercado (OCM) de la leche y los productos lácteos en la reforma de la PAC según la Agenda 2000 y la producción láctea española. ITEA, Vol.98A (1):5-38

CEE. 2002. Rapport sur les quotas laitiers. Document de travail de la Commission. SEC (2002) 789 final.

IFCN. 2002. Dairy Report 2002. Status and Prospects of Typical Dairy Farms Worl-Wide. 141 pp.

RESULTADOS REPRODUCTIVOS Y COSTES DE ALIMENTACIÓN EN LA DIFERENCIACIÓN DE GRUPOS DE EXPLOTACIONES DE OVINO DE CARNE.

T. Chertouh[1], A. Mª Olaizola[1], E. Manrique[1] y A. Oliván[2]
[1] Dpto Agricultura y Economía Agraria. Miguel Servet 177. 50013. Zaragoza.
[2] Carnes Oviaragón Soc. Coop. L. Edificio Pastores. Mercazaragoza. Camino Cogullada. 50014. Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El sector agrario en general y el ovino en particular, están inmersos en un entorno crecientemente competitivo, y probablemente frente a una perspectiva de creciente desprotección. Ante esta situación, parece necesario un aumento de la productividad de las explotaciones ovinas. Además, en las explotaciones ovinas los avances tecnológicos han sido relativamente limitados lo que conlleva un reducido crecimiento de la productividad del trabajo, si bien es cierto que esta baja productividad no siempre cuestiona su subsistencia (Manrique et al, 1995). A los problemas de baja productividad de las explotaciones ovinas, se pueden añadir otras restricciones destacadas que son las relacionadas con la utilización de la mano de obra y la alimentación del ganado, estando a su vez interrelacionadas. En este contexto, se está llevando a cabo un proyecto de investigación[1] sobre las implicaciones económicas de un modelo más intensivo de alimentación del ganado en explotaciones ovinas. Este trabajo representa los primeros resultados sobre la influencia de indicadores reproductivos y de manejo alimenticio en la diferenciación de grupos de explotaciones ovinas establecidos, que permita evaluar su respuesta al mencionado proceso de intensificación de la alimentación.

MATERIAL Y MÉTODOS

La información utilizada procede de una muestra de 101 explotaciones de ovino de carne distribuidas en buena parte del territorio aragonés y pertenecientes a la Red de Gestión Técnico-Económica de Oviaragón Soc. Coop. Los indicadores elaborados corresponden a la media de las campañas 1999-2000-2001. Se ha realizado una clasificación de las explotaciones en función de la dimensión ganadera, de indicadores referidos a costes de alimentación, de resultados reproductivos y de las disponibilidades de mano de obra, cuya finalidad última es poder evaluar las repercusiones económicas de un sistema de alimentación del ganado en explotaciones tipo. Para establecer los grupos, se ha utilizado un Análisis de Componentes Principales y Análisis Cluster. Posteriormente para la descripción de dichos grupos en relación a variables referidas fundamentalmente a manejo alimenticio y resultados reproductivos, pero que no habían sido consideradas previamente en la tipología se ha realizado un Análisis Discriminante. Este análisis es una de las técnicas más utilizadas para la validación de grupos o cluster, ya que uno de sus objetivos es determinar cuáles son las variables que contribuyen en mayor grado a discriminar los sujetos en diferentes grupos definidos a priori.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han obtenido los siguientes cinco grupos de explotaciones de ovino de carne:

Grupo 1. El de *menor dimensión y mayor aprovechamiento a diente de superficies propias*. Formado por cinco explotaciones que presentan la menor dimensión ganadera y la fecundidad más elevada (1,84 corderos nacidos /oveja y

[1] Proyecto P079/2000, subvencionado por el Gobierno de Aragón.

año). Asi mismo, son las que presentan el menor coste en arriendo de forrajes por cabeza, pero no así en el aprovechamiento a diente de pastos propios que es el más elevado (11,89 € / oveja) (Tabla 1). **Grupo 2**. El de *mayor utilización de alimentación propia, pero no en pastoreo*. Formado por quince explotaciones que se caracterizan por presentar el mayor coste en alimentación propia por cabeza (14,32 € / oveja) y el menor coste por cabeza en aprovechamiento a diente de pastos propios, por lo que se trataría de explotaciones con base territorial importante, pero no aprovechada a diente por el ganado. La dimensión ganadera es intermedia y las disponibilidades de mano de obra son elevadas (1,44 UHT). **Grupo 3**. El de *menor fecundidad* y *menor utilización en pastoreo de superficies propias*. Está formado por 44 explotaciones cuya fecundidad media es la menor (1,37 corderos nacidos /oveja y año) de los grupos diferenciados. Así mismo, presentan el menor coste en aprovechamiento a diente de pastos propios, mientras que el coste de alimentación propia por oveja es elevado. **Grupo 4**. El de *mayor dimensión ganadera y mayor utilización de superficies ajenas a la explotación*. Formado por 15 explotaciones cuya dimensión ganadera media es la más elevada (1075 ovejas) y las explotaciones con mayores disponibilidades de mano de obra, pero sólo el 55 % de la mano de obra es familiar. Son el grupo de explotaciones que presentan el mayor coste medio de arrendamientos forrajeros por cabeza (6,88 € /oveja). **Grupo 5**. De *dimensión ganadera media y elevada fecundidad*. Formado por 22 explotaciones de dimensión ganadera menor que la media de todas las explotaciones (498 ovejas) y que obtienen una fecundidad elevada. Así mismo, el coste de la alimentación propia y del aprovechamiento a diente de pastos propios son elevados en relación a los otros grupos.

Para analizar los perfiles medios respecto a otras variables de resultados reproductivos y costes de alimentación de los grupos definidos a priori se ha realizado un análisis discriminante. Se han obtenido cuatro funciones discriminantes (grupos menos uno) cuya significación estadística según el test λ de Wilks permite asegurar que gran parte de la variabilidad total es atribuible a las diferencias de las medias de los diferentes grupos (Tabla 2). Así mismo, a partir de las funciones discriminantes obtenidas es posible clasificar correctamente el 61,4 % de los individuos por lo que podemos considerar que la precisión de la clasificación es aceptable. La primera función está determinada por el coste en voluminoso por cabeza junto al número de corderos vendidos por cabeza y la prolificidad, fundamentalmente. La segunda función está caracterizada por variables reproductivas, la tercera función está determinada por el % de reposición, la fertilidad, el peso de la alimentación comprada en el coste total de alimentación y el gasto en concentrado comprado por oveja. Por último, la cuarta función estaría caracterizada por la relación inversa entre el coste en voluminoso por cabeza y el coste en concentrado comprado y total por oveja. A partir de los centroides de grupo, es decir de la media de los grupos para cada función discriminante, podemos determinar las diferencias entre los grupos de explotaciones. Así el Grupo 1 de *menor dimensión y mayor aprovechamiento a diente de superficies propias*, presenta un elevado porcentaje de partos dobles, elevada prolificidad, elevado número de corderos vendidos/oveja, junto a costes medios muy bajos en concentrado comprado y concentrado total por cabeza. El grupo 2 de *mayor utilización de alimentación propia, pero no en pastoreo*, se caracterizaría por un elevado coste en voluminoso por cabeza, y una prolificidad elevada, así como corderos vendidos por oveja. El grupo 3, *menor fecundidad* y *menor utilización en pastoreo de superficies propias,* también presenta la menor prolificidad y el menor número de corderos

vendidos por oveja, siendo incluso menores a la media que presentaba la muestra de explotaciones en Gestión en 1993 (Oliván et al., 1994). También tienen el menor coste en voluminoso por cabeza. El grupo 4, *mayor dimensión ganadera y mayor utilización de superficies ajenas a la explotación,* obtiene la menor fertilidad, también es el que presenta el menor porcentaje de reposición y el menor coste en concentrado por oveja. Así mismo, es el grupo en que menor importancia tiene la alimentación comprada respecto al coste de alimentación total. El grupo 5, *dimensión ganadera media y elevada fecundidad,* es el que más coste presenta en concentrados tanto comprado como total por cabeza, así como la importancia de la alimentación comprada respecto al coste de alimentación total. Son las explotaciones que mayores porcentajes de reposición tienen.

Tabla 1. Características medias de los grupos de explotaciones.

Grupos	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**Total**
Nº Explotaciones	**5**	**15**	**44**	**15**	**22**	**101**
Nº ovejas	258	618	579	1075	498	624
Arrendam. Forrajeros /oveja (€)	1,98	3,76	3,45	6,88	4,10	4,07
Aprovech. Past. propios /oveja (€)	11,89	1,72	1,32	1,97	3,50	2,47
% UTH Familiar	100	100	95,19	55,44	96,44	90,94
Alimentación propia / oveja (€)	7,38	14,32	8,73	6,73	8,11	9,14
UTH Total	0,45	1,44	1,36	2,07	1,10	1,37
Fecundidad	1,84	1,59	1,37	1,58	1,71	1,53

Tabla 2. Correlaciones entre cada variable y la función discriminante.

	Funciones			
	1	**2**	**3**	**4**
Total voluminoso /oveja (€)	**0.592**	-0.190	0.448	-0.505
% Partos dobles	0.351	**0.819***	0.348	-0.132
Prolificidad	**0.572**	**0.757***	0.116	0.038
Corderos vendidos / oveja	**0.447**	**0.555***	0.237	-0.103
% Reposición	0.089	-0.006	**0.650***	0.341
Fertilidad	0.112	0.276	**0.637***	-0.157
% Alimentación comprada / Coste aliment. total	-0.230	0.138	**0.457***	-0.379
Concentrados comprado /oveja (€)	-0.114	0.299	**0.427***	0.406
Total concentrados /oveja (€)	0.011	0.207	0.342	**0.534***
% de varianza	54,6	22,5	12,4	**10,5**

Tabla 3. Centroides de los grupos en las funciones discriminantes

	Función 1	Función 2	Función 3	Función 4
Grupo 1	0.350	**1.585**		**-1.344**
Grupo 2	**1.766**	**-0.662**	0.291	-0.147
Grupo 3	**-0.806**	-0.360		-0124
Grupo 4	**0.632**	0.347	-0.891	0.302
Grupo 5	-0.102	**0.575**	**0.492**	**0.448**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Manrique, E. Olaizola, A., Maza Mª T. 1995. La agricultura aragonesa ante la reforma de la PAC y los acuerdos del GATT. Actas del 3 º Congreso de Economía Aragonesa.

Oliván, A., Bernués A., Pardos L., Manrique E. 1994. Indicadores reproductivos y resultados económicos en explotaciones de ovino de carne. XIX Jornadas Científicas de la S.E.O.C. Burgos. 131-135.

EFECTO DE LA EDAD SOBRE LA EVOLUCIÓN DE LA CONDICIÓN CORPORAL Y DEL PESO VIVO DE VACAS AVILEÑAS

C. López-Carrasco[1] ; A. Daza[2] ; R. Rodríguez[1]
1. C.I.A "Dehesón del Encinar". 45560 Oropesa . Toledo .
2. Departamento de Producción Animal . E.T.S.I.A. U.P.M.
Ciudad Universitaria 28040 Madrid .

INTRODUCCIÓN

La evolución de la condición corporal y del peso vivo de las vacas de cría a lo largo de sus ciclos reproductivos son dos variables que tienen una gran influencia en la fertilidad y, como consecuencia, en la productividad y en el rendimiento económico de las explotaciones (Daza, 1999). Tal evolución, en el ámbito de las explotaciones extensivas, depende, fundamentalmente, de la disponibilidad de pasto por vaca y del nivel de suplementación alimenticia aportado. El efecto de la edad de la vaca sobre la evolución precitada no ha sido todavía estudiado en las razas bovinas de aptitud preferente carne del ecosistema de la Dehesa, aspecto que puede tener interés con objeto de poder modular adecuadamente los niveles de alimentación suplementaria de las vacas según periodo fisiológico y edad de la reproductora .

El presente experimento estudia, primeramente, la relación entre peso vivo y estado corporal según periodo fisiológico y edad de la vaca y, posteriormente, la evolución de ambas variables con la edad en vacas de raza Avileña - Negra Ibérica explotadas en régimen extensivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

En la finca experimental "Dehesón del Encinar" de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha se han controlado la condición corporal (c.c) y el peso vivo (p.v) de 43, 52 y 40 vacas de raza Avileña-Negra Ibérica en tres campañas ganaderas consecutivas respectivamente. Los controles se realizaron después del parto, en el periodo de monta y al destete (1-2 , 90±10 y 185±14 días posparto respectivamente) según el método de Lowman et al (1976), para la condición corporal, y mediante báscula de precisión para el peso vivo.

Así mismo, se estimó la disponibilidad anual de pasto por vaca según López-Carrasco et al (2002) y se controló la suplementación alimenticia anual aportada por vaca, aplicada desde septiembre a febrero, que fue aproximadamente la misma en los tres años estudiados (200 U.F.L./vaca/año). La paridera se concentró desde noviembre hasta enero y el periodo de monta desde febrero hasta abril destetándose los terneros,escalonadamente, desde mayo hasta julio.

La relación entre peso vivo y condición corporal de las vacas y entre los cambios de ambas variables se estudiaron mediante regresión lineal simple comparando las pendientes utilizando la prueba "t" de Student. Los efectos del año y de la edad de la vaca sobre la c.c y el p.v se analizaron por un análisis de varianza que incluía como efectos fijos a ambos factores y la interacción entre ellos, y para estudiar las variaciones de c.c y de p.v de las vacas desde el parto hasta el periodo de monta y desde el periodo de monta hasta el destete se adoptó el modelo estadístico anterior, pero introduciendo como covariables la c.c y el p.v al parto y en el periodo de monta respectivamente. También se estudió,por regresión simple, la relación entre los cambios de peso y de condición corporal con la edad de las vacas.

Los análisis se realizaron siguiendo el procedimiento G.L.M. del paquete estadístico S.A.S.(1990) .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los resultados que aparecen reflejados en la Tabla 1 se deduce que la relación entre peso vivo y condición corporal ha sido variable según edad de la vaca y momento fisiológico en el que se han recabado los datos. Las relaciones obtenidas entre pérdida de peso (P.P) y pérdida de condición corporal (P.C.C) desde el parto hasta la época de monta (invierno) y entre ganancia de peso (G.P) y ganancia de condición corporal (G.C.C) desde la época de monta hasta el destete (pastoreo de primavera) han sido:

P.P(kg) = 39,3+ 49,7 P.C.C ; R^2=0,11 ; P<0,05 ; n=90

G.P(kg) =44,9+ 101,4 G.C.C ;R^2=0,52 ; P<0,001; n=135

Tales resultados no concuerdan con los revisados por Osoro (1989), ni con los encontrados por Revilla y Blasco (1991) en vacas de las razas Parda Alpina y Pirenaica debido al amplio conjunto de factores que pueden afectar a las precitadas relaciones: raza, edad y formato corporal de la vaca, intervalo de pesos, nivel de repleción del rumen, experiencia de los operadores en la estimación de la condición corporal, etc.

TABLA 1 . RELACIÓN ENTRE PESO VIVO (P.V) Y CONDICIÓN CORPORAL (C.C) SEGÚN EDAD DE LA VACA Y MOMENTO FISIOLÓGICO

Edad de la vaca (años)	Ecuación de Regresión	N	R^2	P <
3-7	$P.V_{p=}211,07+119,8^a$ C.C.P	54	0,53	0,001
8-10	$P.V_{p=}320,8+ 87,2^b$ C.C.P	40	0,51	0,001
>10	$P.V_p=336,2+84,6^b$ C.C.P	41	0,41	0,01
Momento Fisiológico				
Parto	$P.V=300,44+97,74^a$ C.C.P	135	0,47	0,01
Época de Monta	$P.V=229,05+115,62^b$ C.C.M	135	0,56	0,001
Destete	$P.V=414,82+71,52^c$ C.C.D	135	0,31	0,05
P=parto ; M=monta ; D=destete ; $N=n^0$ de pares de observaciones Según factor de variación pendientes con distintos superíndices difieren P<0,05				

El año afectó significativamente al peso y a la condición corporal al parto y en el periodo de monta y al peso al destete (p<0,05), pero no tuvo influencia estadísticamente significativa sobre la condición corporal al destete (p<0,39). La c.c y el p.v al parto estuvieron positivamente relacionados con la producción de pasto de la primavera anterior.

La evolución media de la c.c y del p.v de las vacas (valores medios de los tres años estudiados) se expone en la Tabla 2. Las vacas de más de 10 años tuvieron condiciones corporales al parto, en la fase de monta y al destete significativamente más bajas que las de 3-7 y 8-10 años y pesos más bajos en el periodo de monta y al destete que las vacas de 8-10 años. Las vacas de 8-10 años fueron las que menos c.c y p.v perdieron desde el parto hasta el periodo de monta y la recuperación de peso acontecida durante la primavera (monta-destete) no estuvo afectada por la edad de la vaca, aunque las vacas jóvenes de 3 a 7 años recuperaron significativamente mayor c.c que las restantes en la citada estación. La interacción año x edad no resultó significativa (P<0,42).

Las pérdidas de p.v y de c.c parto-periodo de monta estuvieron relacionadas positivamente (coeficientes de regresión de 0,14 y de 0,243 ,P<0,05) con el p.v y c.c al parto y las recuperaciones de peso y de c.c durante la primavera se redujeron conforme aumentaban los valores de dichas variables en el periodo de monta (coeficientes de regresión de –0,295 y de –0,245 ,P<0,05) resultados que concuerdan con los observados por Agabriel et al (1992) en vacas de razas Charolais y Limousin . Las variaciones de peso (V.P) y de condición corporal (V.C.C) desde el parto hasta la época de monta con la edad de la vaca(E) se ajustaron a funciones cuadráticas de estructura :

$V.P(kg)= -82,8+11,2E-0,58E^2$; $R^2=0,39$; $P<0,05$; n=135

$V.C.C.=-0,611+0,094E-0,0056E^2$; $R^2=0,041$; $P<0,05$; n=135

Sin embargo, tales variaciones, desde la fase de monta hasta el destete, (recuperación de primavera) estuvieron correlacionadas negativamente con la edad de la vaca aunque, en este caso, las regresiones lineales obtenidas no fueron significativas.

TABLA 2. EFECTO DE LA EDAD SOBRE LAS VARIACIONES DE CONDICIÓN CORPORAL(V.C.C) Y DE PESO VIVO(V.P) DE LAS VACAS

Edad (años)	N	C.C.P	C.C.M	C.C.D	V.C.C (p-m)	V.C.C (m-d)	P.V.P kg	P.V.M kg	P.V.D kg	V.P (p-m) kg	V.P (m-d) kg
3-7	54	$3,12^a$	$2,82^a$	$3,50^a$	$-0,29^a$	$0,66^a$	586,5	$538,5^a$	$651,8^a$	$-46,2^a$	111,3
8-10	40	$3,15^a$	$3,03^b$	$3,55^a$	$-0,15^b$	$0,53^b$	595,5	$581,4^b$	$680,4^b$	$-17,1^b$	101,3
>10	41	$2,80^b$	$2,45^c$	$3,00^b$	$-0,32^a$	$0,56^b$	573,2	$532,1^a$	$637,5^a$	$-40,4^a$	105,8
E.E.M	-	0,040	0,045	0,037	0,035	0,028	11,6	7,6	6,22	5,1	4,8

N=nº de vacas ; C.C.P= condición corporal al parto ; C.C.M= condición corporal en el periodo de monta ; C.C.D= condición corporal al destete ; P.V.P= peso vivo al parto ; P.V.M= peso vivo en el periodo de monta ; P.V.D= peso vivo al destete ; (p-m)= periodo parto-época de monta ; (m-d)= periodo época de monta –destete; E.E.M= error estándar de la media

Por columnas, medias con distintos superíndices difieren P<0,05. Las V.C.C y V.P son medias de mínimos cuadrados.

Según los resultados obtenidos en este experimento, la c.c es una variable limitadamente predictora del p.v, y como quiera que las vacas de más de 10 años son más sensibles a perder c.c y p.v después del parto, durante el periodo invernal, parece recomendable que se suplementen separadamente de las más jóvenes desde septiembre a febrero, práctica de manejo factible de realizar en las fincas de Dehesa que dispongan de varias cercas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGABRIEL,J. ;GRENET,N. ;PETIT,M. 1992. Productions Animales, (5) 5 :355-369 I.N.R.A

DAZA,A.1999. Producción de vacuno de carne en la Dehesa. Bovis,87 Ed Luzán, 100 pp

LÓPEZ-CARRASCO,C. ;ROBLEDO,J.C. ;OVEJERO,I. ;DAZA,A.2002. XLII Reunión Científica de la S.E.E.P, 469-474

LOWMAN,B.G. ;SCOTT,N.A. ;SOMERVILLE,S.H. 1976. Condition scoring suckler cows. E.S.C.A. Bull nº 6

OSORO,K. 1989. Investigación Agraria. Producción y Sanidad Animales, 3:207-240

REVILLA,R. ;BLASCO,I. 1991.En: Vacuno de carne extensivo, 199-235. Ed Junta de Extremadura. Consejería de Agricultura y Comercio.

S.A.S. 1990.User's guide statistics . S.A.S Institute , Cary NC U.S.A.

ITEA (2003), Vol. Extra N.º 24. Tomo II, 824-826

EVALUACIÓN DEL PESO AL DESTETE DE ANIMALES BRAHMAN PURO Y F1 HOLSTEIN-BRAHMAN EN CONDICIONES DE TRÓPICO VENEZOLANO.

[1]R. Vitto, [1]A. Rangel, [2]J. Ciria.
[1]Decanato de Investigación. Dpto. de Ing. de Producción Animal.
Universidad del Táchira. Venezuela. [2]E.U.I. Agrarias de Soria.
jvitto@reacciun.ve vittor19@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La necesidad de intensificar la producción de bovinos en Venezuela y la tendencia hacia un aumento en la superficie de pastos cultivados disponibles para el destete y la fase de terminación, hace necesario evaluar sistemas de cruzamientos en diferentes condiciones ambientales bien definidos. Cuando se habla, en este sentido, de cruzamiento, se refiere a un apareamiento de vacas y toros de tal forma que garantice la combinación de genes *Bos índicus* con genes *Bos taurus* de diferente proporción (Plasse *et al.*, 1990).

Según Atencio (1990), en Venezuela y América Latina, las crías F1, producto del cruzamiento *Bos taurus* x *Bos indicus*, superan en términos de crecimiento pre y postdestete a los animales Cebú en aproximadamente 10%, siendo la ganancia diaria durante la ceba y el peso en canal mayor, 16 y 12%, respectivamente. Ello demuestra que existe la necesidad de coordinar esfuerzos con el objeto de evaluar diversas razas y diferentes esquemas de cruzamiento que generen información necesaria y útil a los criadores de ganado de carne en Venezuela con miras a incrementar la eficiencia de producción.

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo fue realizado en la Hacienda Santa Rosa, propiedad de SIRCA empresa rental de la Universidad Nacional Experimental del Táchira, Venezuela, localizada dentro de las coordenadas 07° 34" 15' latitud norte y 72° 02" 50' longitud oeste.

Se consideró como variable dependiente el peso al destete ajustado a los 205 días de vida. Se incluyeron 485 registros correspondientes a los destetes entre 1999 y 2002. Los datos fueron procesados por medio de un análisis de varianza utilizando el procedimiento del Modelo Lineal General basado en la estimación de Mínimos Cuadrados, que permite analizar datos con número desigual de observaciones por subclases. Para el Grupo racial (G) se evaluaron dos niveles F_1 Holstein - Brahman y Brahman puro, Año de nacimiento (A) con cuatro niveles (1999, 2000, 2001, 2002); Sexo de la cría (S) con dos niveles (Macho, Hembra); Grupo de edad (E) con cinco niveles (2, 3 , de 4 a 6, de 7 a 9 y 10 años ó más) y la covariable peso al nacer.

El modelo utilizado fue:

$$Y_{ijklr} = \mu + G_i + A_j + S_k + E_l + (GS)_{ik} + \lambda\,(PN_{ijklr} - \xi.....) + \varepsilon_{iklr}$$

Donde: Y_{ijklr}= Peso al destete ajustado a los 205 días, de un becerro de grupo racial "i", del año de nacimiento "j", con sexo "k" y con madre de edad "l". μ = media. G_i= Efecto del i – ésimo grupo racial "i", i=1,2. A_j= Efecto del j – ésimo año de nacimiento "j", j=1,2,3,4. S_k= Efecto del k – ésimo sexo de la cría "k", k=1,2. E_l= Efecto

del l – ésimo grupo de edad de la madre "l", l=1,...5. $(GS)_{ik}$= Efecto de la i,k – ésimo interacción entre grupo racial y sexo de la cría. λ $(PN_{ijklr} - \xi.....)$= Coeficiente de regresión para la covariable peso al nacer. ε_{iklr}= Error residual.

Para determinar el crecimiento predestete se utilizó como variable respuesta el peso ajustado a los 205 días (kg), el cual se calculó de acuerdo a la siguiente formula:

$$P205 \text{ días} = \frac{(PD - PN)}{\text{Edad en días}} \times 205 \text{ días} + PN$$

PD = peso al destete; PN = peso al nacer.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto del grupo racial

En el grupo racial aunque no presentó significancia estadística, se observó superioridad de los F1 (Holstein - Brahman) sobre los Brahman, la media ajustada fue de 166 y 160 kg, respectivamente. La diferencia corresponde a 6.0 kg representando el 3.7%.

Los resultados obtenidos corroboran los observados en la literatura, para el trópico, donde se indica que los F1 (*Bos taurus* x *Bos indicus*) superan a los Brahman, debido a que bajo condiciones tropicales estos cruzamientos producen altos niveles de heterosis (Plasse *et al.*, 1992; Martínez y Vaccaro, 1996).

Efecto del sexo de la cría

El sexo de la cría afectó significativamente la variable dependiente ($P<0.05$), los machos, en general, obtuvieron mayor promedio ajustado, 166.1 kg, que las hembras, 159.9 kg, superándolas en 6.2 kg, representando el 3.9%. Estos valores coinciden con los hallados en la literatura, donde diversos autores reportaron superioridad de los machos sobre las hembras (Montoni, 1995; Romero y Plasse, 1995; Martínez *et al.*, 1998; Atencio, 2001; Vitto, 2002).

Igualmente se evaluaron los grupos sexuales por separado, observándose superioridad de las hembras F1 sobre las Brahman en 13 kg, equivalente al 8.4 %, mientras que los machos Brahman alcanzaron 0.26 kg más que los F1.

Efecto del año de nacimiento

El año de nacimiento fue significativo ($P<0.01$), se observaron variaciones interanuales con un máximo de 169.5 kg y un mínimo de 157.9 kg para los años 2000 y 2001, respectivamente, las diferencias entre ellos fue 11.6 kg, que corresponde al 7.31%.

Los resultados encontrados coinciden con la literatura citada, en la que diversos investigadores indican al año de nacimiento como fuente de variación importante en el crecimiento predestete (Arango y Plasse 1994; Martínez *et al.*, 1998; Vitto 2002).

Efecto edad de la madre

El efecto de la edad de la madre sobre el crecimiento predestete no arrojó significancia estadística, sin embargo, se presentaron diferencias entre las edades estudiadas. El grupo de 4 a 6 años obtuvo el promedio ajustado más alto 169.4 kg y las de 2 años el más bajo, 155.3 kg.

Peso al nacer

La covariable peso al nacer resultó significativa ($P<0.01$), este efecto se puede expresar en que por cada kg de incremento de peso al nacer, los becerros aumentaron

1.3 kg de peso al destete, valor que coincide con el observado por Gutiérrez (1995) siendo inferior al hallado por Vitto (2002).

La media general de peso al nacer, ajustado, fue de 33.7 kg, con un rango de 20 a 50 kg. La media para la raza Brahman fue de 33.6 kg y para los F1 33.9 kg.

Efecto de la interacción Grupo racial x Sexo (GS)

La interacción raza del becerro x sexo resultó estadísticamente significativa ($P<0.05$). Lo que indica que no se cumplió la tendencia de que los machos superen a las hembras a través de los años, ya que estos no fueron superiores durante todo el periodo de estudio, condición que se cumplió para ambos grupos raciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ARANGO, J. y D. PLASSE. 1994. En: D. Plasse, N. Peña de Borsotti y J, Arango (Eds.). X Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. 159 pp.

ATENCIO, A. 1990. En: D. Plasse y N. Peña de Borsotti (Eds.). VI Cursillo sobre Bovinos de carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp. 167-184.

ATENCIO, A. 2001. En: R. Tejos, C. Zambrano, L. Mancilla y W. García (Eds.). VII Sseminario Manejo y Utilización de Pastos y Forrajes en Sistemas de producción Animal. Universidad Nacional Experimental de los Llanos Ezequiel Zamora. Barinas, Venezuela. pp. 1 – 20.

GUTIÉRREZ, A. 1995. Trabajo para optar al grado de Ingeniero de Producción Animal. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela. 80 p.

MARTÍNEZ, G. y L. VACCARO. 1996. En: D. Plasse, N. Peña de Borsotti y J, Arango (Eds.). X Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp 185- 204.

MARTÍNEZ, G., J. PETROCINIO y P. HERRERA. 1998. Rev. Fac. Agron. Universidad del Zulia, Venezuela. 15: 266-277.

MONTONI, D. 1995. Trabajo de ascenso. Universidad Nacional Experimental del Táchira. San Cristóbal, Venezuela, 115 pp.

PLASSE, D., H. FOSSI y O. VERDE. 1990. En: D. Plasse y N. Peña de Borsotti (Eds.). VI Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp. 71-94.

PLASSE, D., H. FOSSI y O. VERDE. 1992. En: D. Plasse, N. Peña de Borsotti y J, Arango (Eds.). VIII Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp. 239-267.

ROMERO, R., y D. PLASSE. 1995. En: R. Romero, J. Arango y J. Salomón (Eds.). XI Cursillo sobre Bovinos de Carne. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. pp. 249-287.

VITTO, R. 2002. Trabajo presentado para optar al grado de Doctor. Universidad de Valladolid. España. 113 p.

VARIACIÓN Y EFECTO DEL AÑO EN LOS RESULTADOS DEL CEBO DE TERNEROS DE RAZA MORUCHA

S. Álvarez Sánchez-Arjona

Universidad de Salamanca. Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales
Filiberto Villalobos 119. 37007 Salamanca

INTRODUCCIÓN

Las razas autóctonas rústicas de vacuno de carne en España se caracterizan por una elevada eficacia reproductiva (fertilidad, capacidad de cría) pero también por una eficacia en la producción de carne inferior a otras razas autóctonas y a razas especializadas. Son animales muy bien adaptados al entorno en el que se desenvuelven, y elemento básico de un sistema de producción de tipo extensivo, respetuoso con el bienestar animal y con el medio natural. Es decir, se enmarcan dentro de las líneas que se están potenciando en la política europea.

Además, la carne producida es de calidad, y así lo perciben los consumidores (Santolaria y col., 1997). Éstos, por otra parte, también valoran el control y la trazabilidad del proceso productivo, avalada por una marca de calidad, que parece ser la forma de rentabilizar la falta de eficiencia productiva de estas razas.

No obstante, pese a que se está realizando un esfuerzo en la mejora de las razas, existen todavía diferencias notables entre explotaciones (Alvarez, 2001), que pueden ser aprovechadas. Este trabajo pretende en primer lugar poner de manifiesto dichas diferencias. Por otra parte, se estudia también el efecto del año en la eficiencia productiva, para analizar si las diferencias observadas en el caso estudiado se mantienen a lo largo del tiempo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un seguimiento del peso en la fase de cebo a 33 terneros de raza morucha de una explotación comercial, pertenecientes a 4 años distintos, de 1999 a 2002. Todos ellos se han engordado con el mismo tipo de pienso y paja, y en las mismas condiciones de alojamiento y manejo. Se pesaron al destete y al final del cebo, y en dos ocasiones más a lo largo del periodo de cebo. Se ha analizado la influencia del año en el peso y en la velocidad de crecimiento mediante en procedimiento GLM de Statgraphics, utilizando el año como efecto fijo y el peso inicial como covariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales se engordaron desde el destete, con un peso medio de 219 kg. No se han encontrado diferencias significativas en el peso vivo inicial de los teneros en los distintos años, pero sí existen en el peso final y en la duración del cebo, que evolucionan obviamente en el mismo sentido: el peso final se incrementa a medida que se alarga el cebo.

Tabla 1: Peso vivo al final del cebo en los cuatro años de estudio

	n	Peso final, kg (media ± s.e.)	Días de cebo (media ± s.e.)
TOTAL	33	407 ± 3,7	128 ± 2,3
1999	9	375 ± 6,7^{a}	112 ± 4,3^{a}
2000	10	417 ± 6,2^{b}	142 ± 3,9^{b}
2001	10	378 ± 6,2^{a}	104 ± 4,0^{a}
2002	4	458 ± 6,7^{c}	167 ± 6,4^{c}
NS		***	**

Medias con distinto superíndice en la misma columna son significativamente distintas al nivel indicado: ** p<0,01; *** p<0,001

La velocidad de crecimiento media en el conjunto de los animales es de 1443 g/d, y no se han encontrado diferencias significativas entre los distintos años, ni tampoco efecto significativo del peso inicial (p>0,05). Este valor, que se mantiene, por tanto, a lo largo de los años del estudio, es superior al que hemos encontrado en trabajos previos, 1131 ± 141 g/d (Alvarez, 2001) y a los que aporta Albertí (1997) para teneros de raza morucha engordados entre los 262 y los 458 kg: 1221 ± 197 g/d. Es posible que esto se deba a las diferencias existentes entre las ganaderías, de forma que cada una de ellas pueda distanciarse considerablemente de los valores medios de la raza.

La velocidad de crecimiento obtenida es, además, similar a la que encuentran Lavín y col. (1999) en terneros de raza Parda y de raza Limusín en el mismo tipo de cebo, que son 1,336 ± 0,0336 kg/d y 1,464 ± 0,0844 kg/d respectivamente. Es también del mismo rango que la velocidad de crecimiento de la raza Gasconne, también de tipo rústicos, que obtienen Renand y col. (2002), aunque en este caso el cebo es más largo (9 meses desde el destete) y el peso final es mayor (600 kgPV).

Las velocidades de crecimiento parciales en el periodo de cebo presentan diferencias significativas en las dos primeras fases, como se recoge en la tabla 2. Dichas diferencias pueden deberse, no obstante, a los diversos periodos comprendidos entre pesadas sucesivas en los distintos años, por lo que es necesario un trabajo posterior en el que se estandarice este aspecto.

Tabla 2: Velocidades de crecimiento parciales en los años de estudio

	Primera fase	Días que dura la fase	Segunda fase	Días que dura la fase
1999	1368 ± 73^{a}	77	1567 ± 59^{a}	29
2000	1249 ± 67^{a}	33	1545 ± 54^{ab}	47
2001	1602 ± 67^{b}	59	1398 ± 54^{b}	71
2002	1418 ± 108^{ab}	47	1522 ± 87^{ab}	75
Valor medio	1409 ± 40		1508 ± 32	

Medias con distinto superíndice en la misma columna difieren significativamente (p<0,05).

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración prestada por D. José Mª Hernández Navarro y la explotación Aldeanueva, en Salamanca, para la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTÍ, P. (1997), "Sistemas de cebo en producción intensiva", en Buxadé, C. (coord.), *Vacuno de carne: aspectos claves*, pp. 191-211. Madrid: Mundi-Prensa.

ALVAREZ, S. (2001), "Velocidad de crecimiento en terneros de raza morucha en cebo", *ITEA vol. extra* 22 (II), pp. 520-522.

LAVÍN, P.; LÓPEZ, J.; MARTÍN, C.; SERRANO, E.; MANTECÓN, A.R. (2001), "Crecimiento y caracteristicas de la canal de terneros producidos en condiciones de explotación en zonas de montaña: efecto del tipo productivo y de la raza", *ITEA* vol. extra 20 (II), pp. 783-785.

RENAND, G.; HAVY, A.; TURIN, F. (2002), "Caractérisation des aptitudes bouchères er qualités de la viande de trois systèmes de productionde viande bovine à partir des races rustiques françaises Salers, Aubrac et Gasconne », *INRA Productions Animales* vol. 15, nº 3, pp. 171-183.

SANTOLARIA, P.; SAÑUDO, C.; ALBERTÍ, P.; CAMPO, M.M. (1997), "Estudio de la calidad organoléptica de la carne de añojo de siete razas españolas mediante una prueba de consumidores", *ITEA* vol. 93ª, nº 2, pp. 89-97.

COMPROBACIÓN DEL CONTROL LECHERO OFICIAL EN OVEJAS DE RAZA MANCHEGA.

Arias, R.[1].; Pérez-Guzmán, M.D.[1]; Alcaide, V.[1]; Gª-Cervigón, M.[1]; Gallego, R.[2]; Montoro, V[1].
[1]. Centro Regional de Selección y Reproducción Animal. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
Avda. del Vino, 6. 13300 Valdepeñas.
[2]. Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega
Crt. de Madrid s/n. 02006 Albacete.

1. INTRODUCCIÓN.

El Centro de Selección y Reproducción Animal de la Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, en cumplimiento del Real Decreto 1213/1997 de 18 Julio, lleva realizando desde el año 1999, la comprobación del control de rendimientos lecheros de ovejas inscritas en ganaderías de la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega (AGRAMA), como instrumento para verificar los sistemas de control lechero realizados por AGRAMA y cuyos resultados se registran de acuerdo a los métodos A4 y AC aprobados por el Comité Internacional para el Control del Rendimiento del Ganado (ICAR).

2. MATERIAL Y MÉTODOS.

El Control Lechero Oficial se viene realizando, como instrumento básico del Esquema de Selección de la raza ovina Manchega, desde el año 1980. Los controles lecheros de las ganaderías de AGRAMA, agrupadas en Núcleos de Control, se realizan sobre los distintos lotes de ordeño, mediante los métodos A4 ó AC, procediendo al cálculo de lactaciones normalizadas a 120 días.

Sobre este sistema de control lechero, a lo largo de los años 1999 al 2002, se ha procedido a efectuar 86 comprobaciones en distintas ganaderías de AGRAMA, contabilizándose un total de 3262 ovejas inspeccionadas, según la distribución que refleja la Tabla 1.

Tabla1. Distribución de comprobaciones del Control Lechero

	1999	2000	2001	2002	TOTAL
Lactaciones completadas	26.265	31.461	37.648	33.686	129.060
Comprobaciones realizadas	16	25	24	21	86
Nº ovejas comprobadas	540	955	892	875	3262
Nº ovejas/ comprobación	34	38	37	42	38
% de lactaciones comprobadas	2,0	3,0	2,4	2,6	2,5

Las comprobaciones, sin previo aviso, se realizan al día siguiente del control mensual por inspectores del CERSYRA, siguiendo la misma metodología. Se procede, sobre un número aleatorio de ovejas del lote de control, a la revisión de la medición cuantitativa y a la toma de muestras de leche para su análisis físico-

químico en el Laboratorio, en un equipo MilkoScan 4000, espectrofotómetro de infrarrojo medio, para la determinación de grasa y proteína.

Posteriormente, el resultado cuantitativo y cualitativo de las comprobaciones es contrastado con los datos del control lechero mensual, para evidenciar posibles incidencias resaltables, proceder al estudio de las posibles causas y, en su caso, aplicar medidas disuasorias para evitar en lo sucesivo estas circunstancias.

La variable estudiada ha sido la diferencia entre el parámetro obtenido el día del control oficial (leche, grasa y proteína) y el resultado el día de la comprobación

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Los resultados de las comprobaciones de los controles lecheros, en cuanto a volumen, se observan en la Tabla 2. Los resultados se clasifican según la existencia de incidencias resaltables o no y el nivel productivo del control.

Se evidencia que un 74% de las ovejas no presentaban incidencias resaltables, frente a un 26 % cuya diferencia entre el control y la comprobación es mayor del 20% a favor del día del control, con una mayor incidencia en animales de producción inferior a un litro. En proporción son más importantes las diferencias indeseables (> 20%) en los animales de más de un litro, mientras que se destaca un alto número de casos de animales de producción menor de 500 ml, con aumentos mayores del 20% el día de la comprobación.

Tabla 2: Resultados de las comprobaciones cuantitativas según nivel productivo.

	Diferencia cuantitativa entre la leche producida en el control y en la comprobación.	Porcentaje de ovejas comprobadas según su producción de leche.			
		< 500 ml	500-1000 ml	>1000 ml	Total
Comprobaciones sin incidencias resaltables	0 ±15%	19,03	21,50	3,61	44,14
	±15 a ± 20%	4,38	6,76	1,26	12,40
	> +20%	12,65	4,53	0,28	17,46
Comprobaciones con incidencias	-20 a -30%	4,75	4,97	1,42	11,14
	< -30%	6,14	6,57	2,16	14,87
	Total	46.95	44,32	8,73	100

A continuación se presentan dos comprobaciones diferentes donde se aprecian claramente la existencia o no de incidencias. El primer caso representa una comprobación sin incidencias en la que la mayoría de las ovejas tienen una diferencia de cantidad de leche entre control y comprobación en torno a cero, especialmente las de producción mayor de un litro, encontrando un apreciable número de animales de menos de medio litro que incrementan la cantidad de leche en más del 20%, el día de la comprobación. El segundo caso es una comprobación en la que la gran mayoría de las ovejas aparecen con diferencias cuantitativas de leche mayores del 20% a favor del día del control, destacando que todas las ovejas con producción mayor de un litro tienen diferencias sustanciales mayores del 30%, igualmente a favor del día del control.

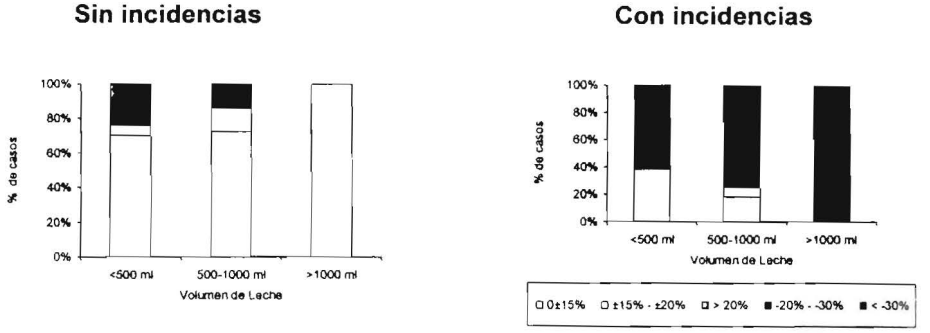


Figura 1. Ejemplos de comprobaciones según incidencias

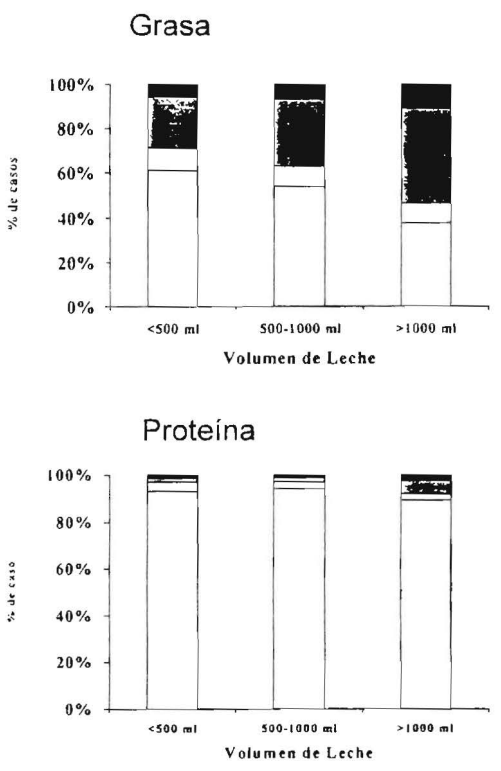


Figura 2. Comprobaciones cualitativas

Respecto a las comprobaciones cualitativas, en la gran mayoría las diferencias en grasa no exceden de ± 20%, mientras que sí se observan una apreciable cantidad de casos en los que la diferencia entre el control y la comprobación es mayor del 20% a favor de ésta última, lo que puede deberse a que en el ordeño de comprobación se obtiene una mayor cantidad de leche alveolar, debido al celo del ganadero por obtener una mayor cantidad de leche, y ésta contiene más grasa que la leche cisternal (Molina y Gallego, 1994). En cuanto al análisis proteico, se evidencia que las diferencias entre control y comprobación se encuadran entre ± 15% en la práctica totalidad de los casos, lo que una vez más evidencia la escasa variabilidad de este parámetro frente a la grasa.

A partir de estos resultados se elaborará una escala en función de las incidencias negativas, y así, clasificar las comprobaciones. Esto nos permitirá obtener un buen instrumento para la toma de decisiones futuras.

4. BIBLIOGRAFIA.

- REAL DECRETO 1213/1997, de 18 de julio, por el que se regula el control de rendimientos lecheros para la evaluación genética de las hembras de las especies bovina, ovina y caprina de raza pura para reproducción. (B.O.E. de 8 de agosto de 1997)
- MOLINA, P., GALLEGO, L. 1994, "Composición de la leche: factores de variación". En: GALLEGO, L., MOLINA, P., CAJA, G., "Ganado ovino: raza Manchega". Ed. Mundi-Prensa. Madrid:191-208.

DESARROLLO DE UN MODELO DE REBAÑO PARA SIMULAR LA LACTACIÓN EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LA OVEJA LATXA.

R. Ruiz, L.M. Oregui
NEIKER A.B. Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46, 01080 Vitoria-Gasteiz.

INTRODUCCIÓN

La gestión de los sistemas de producción animal resulta especialmente complicada en la actualidad debido a que su optimización debe contemplar objetivos de producción, medioambientales, de calidad de productos, bienestar animal, etc. El diseño y empleo de modelos de simulación constituye una herramienta de gran utilidad para elaborar sistemas de apoyo a la toma de decisiones (Herrero et al., 1996), además de para analizar y profundizar en las relaciones existentes en el sistema que representan (Dent y Thornton, 1988). El objetivo del presente trabajo es la aproximación al diseño de un modelo de rebaño para simular el efecto de distintas estrategias de producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente modelo ha supuesto una revisión del conocimiento existente con relación a los sistemas de ovino lechero en la CAPV (Arranz *et al.*, 1995; Ruiz 2000; Ruiz et al. 2000), y para se realización se ha empleado el programa Modelmaker (ModelMaker User Manual, 1997). Diferencia los animales que conforman el rebaño en función de su edad: corderas de 1 año de edad, jóvenes de 2 años, adultas de 3 a 6 años, y viejas de más de 6. Dados unos parámetros de composición del rebaño y de fertilidad para cada uno de esos estratos de edad, se calcula el número de animales que paren a lo largo de una campaña. El desarrollo de los partos se ha considerado según una periodicidad quincenal (Tabla 1), lo que simplifica considerablemente la metodología de trabajo y permite una aproximación aceptable a la cinética de entradas al ordeño (Ruiz 2000).

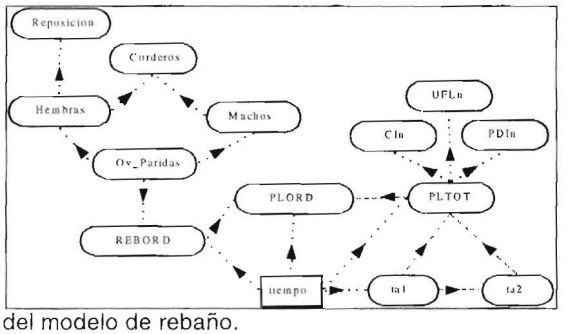


Figura 1.- Esquema del modelo de rebaño.
REBORD = Rebaño de ordeño; PLORD = Prod. de leche ordeñada; PLTOT = Prod. de leche total (incluida la ingerida por el cordero durante la lactancia); CIn, UFLn y PDIn = Capacidad de ingestión, necesidades energéticas y de proteína estimadas en función de necesidades de mantenimiento y de producción; ta1 y ta2: variables dependientes del tiempo t para estimar la curva de lactación

El rebaño en ordeño lo conforman los animales que para un determinado momento han parido y cuyos corderos han sido destetados, habiéndose considerado un periodo de lactancia de los corderos para venta de 30 días (Arranz *et al.*, 1995).

Las corderas de reposición proceden normalmente de gestaciones de inseminación, y su manejo presenta diferencias notables dependiendo del sistema de producción (Hanoq *et al.*, 1993). Teniendo en cuenta una probabilidad del 50% en la determinación del sexo, y una prolificidad media determinada, las primeras hembras en nacer de los

partos de las ovejas adultas irán constituyendo el grupo de animales de reposición (REPOSICION), destinándose el resto a sacrificio (CORDEROS).

Para simular el patrón de producción lechera desde el parto (PLTOT) se han empleado coeficientes diferentes según la edad y el mes de parto (*Ruiz et al.* 2000). Con el objeto de analizar la evolución de la producción lechera ordeñada (PLORD) no se ha considerado la obtenida duración el periodo de amamantamiento. El modelo se ejecuta en función del tiempo, de modo que tomando el 1 de noviembre como punto de partida, calcula diariamente los parámetros definidos hasta el secado. El modelo se ha comparado con los datos observados en un rebaño de 230 ovejas compuesto por:

- 25,2% de corderas de 1 año de edad, cuya fertilidad es del 67%;
- 21,7% de ovejas jóvenes de 2 años (*arkastas*), con un 80% de fertilidad;
- 41,3% de ovejas de entre 3 y 6 años, de las que pare el 88%;
- 11,7% de ovejas mayores de 6 años, con un 85% de fertilidad.

Tabla 1.- Porcentaje de partos quincenal (S0) correspondiente a la distribución del rebaño para cada clase de edad en un rebaño comercial de la CAPV.

Estrato de edad	Noviembre		Diciembre		Enero		Febrero		Marzo	
	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª	1ª	2ª
Corderas, 1 año							5,1		43,6	51,3
Ovejas, 2 años		14,0				7,0	58,1	2,3	18,6	
Adultas, 3 a 6 a.		36,6	31,7	12,2	1,2	4,9	9,8	1,2	1,2	1,2
Viejas, > 6 años		50,0	18,2	13,6	4,6	4,6	4,6		4,6	

La tasa de reposición fue del 23%, destetándose las corderas a los 45 días de edad, y se ordeñaba al 94,6% de las ovejas paridas. Las simulaciones realizadas han consistido en: i) Reproducir el comportamiento del rebaño con los parámetros reales de fertilidad y distribución de partos reales del rebaño (S0); ii) Describir el comportamiento teórico si se incrementase hasta el 80% la fertilidad de las corderas, 90% en las arkastas y 95% en las ovejas adultas y viejas (S1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El inicio real del ordeño se produjo el día 38 (8 de diciembre). Dos meses más tarde el número de ovejas en ordeño era de 59, un 34% de las 176 ovejas ordeñadas a lo largo de toda la campaña (Figura 2). El momento en el que se registró un mayor número de ovejas en ordeño se produjo el día 180, con 130 animales (74% en ordeño simultáneo). Por lo que se refiere a la evolución simulada de manera teórica (S0), el inicio del ordeño se produciría una semana más tarde (día 46) con 23 ovejas. La entrada de animales al ordeño se simuló de manera más escalonada que la real, y el modelo predijo un número máximo de 149 ovejas en ordeño (85%) entre los días 166 y 180. Fue durante ese periodo cuando se produjeron las mayores diferencias (29 ovejas) con respecto a la evolución observada en el rebaño, las cuales prácticamente desaparecieron entre los días 182 y 227.

La producción estimada por el modelo para el conjunto de la campaña (16770 litros) fue prácticamente similar a la producción real obtenida (16953 litros). No obstante se encontraron algunas diferencias en momentos concretos. Así, pese a la inexistencia de grandes diferencias en la evolución del rebaño de ordeño entre el inicio del ordeño y el día 120 (finales de febrero), la producción lechera real obtenida en ese periodo (5842 litros) fue un 16,6% superior a la estimada por S0 (5009 litros). Estas se invirtieron

entre los días 121 y 152 con una cinética también similar entre ambas, siendo la producción estimada en S0 (3504 litros) casi un 21% superior a la real (2903). Tanto cinéticas de ordeño como producciones fueron similares entre los días 182 y 226.

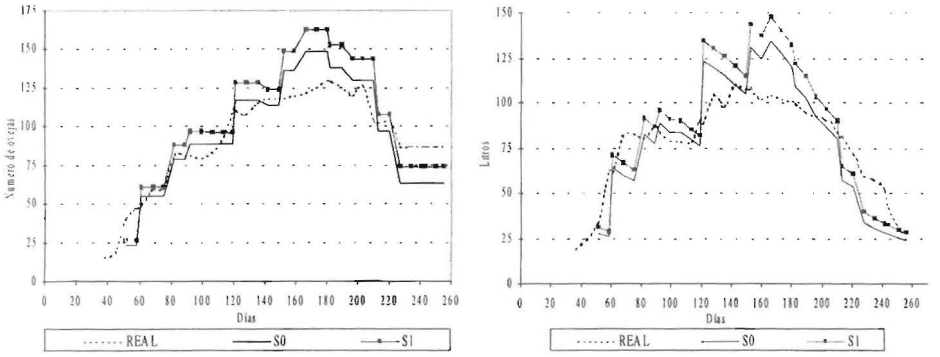


Figura 2.- Evolución real (REAL) y simulada del número de ovejas en ordeño y de la producción ordeñada bajo diferentes condiciones en un rebaño de partos dispersos. S0=condiciones reales; S1=incremento en la fertilidad.

Las mayores diferencias en el número de ovejas en ordeño entre los datos reales y S0 se produjeron entre los días 152-181, y a partir del día 227. Estas se reflejaron en la producción de leche a favor de la cinética con un mayor número de efectivos. Así, en el primero de estos periodos estas fueron favorables a S0 (3792 litros frente a 3097 litros reales), mientras que en la fase final lo fueron a favor de los datos reales (1389 litros reales frente a 760 litros estimados).

Bajo las condiciones simuladas, un incremento de la fertilidad en los diferentes tipos de animales (S1) se traduciría en un aumento del 12% en el número de ovejas ordeñadas a lo largo de la campaña (197) y un 10,7% en la producción lechera (18556 litros).

En definitiva, los resultados ofrecidos por el modelo en lo relativo a la evolución del número de ovejas en ordeño y la producción lechera son comparables a los observados en el rebaño tomado como ejemplo. No obstante la determinación del momento en el que se produce el secado de las ovejas supone una dificultad importante, puesto que su origen radica en una serie de factores de difícil consideración (patologias, venta de animales, mortalidad, etc). En cierto modo, este hecho encierra un cierto componente de aleatoriedad que en el futuro habría que tratar de integrar mediante el empleo de variables estocásticas (Sørensen *et al.*, 1996).

Más que la formulación de predicciones concretas el principal interés de este tipo de herramientas es el de discutir y reflexionar acerca del efecto de ciertas prácticas mediante la construcción de escenarios hipotéticos (Bouche, 1998).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Arranz J., Oregui L.M., Bravo M.V., Ugarte E., Urarte E., Lana M.P., y Torrano L. ITEA Volumen Extra Nº16, Tomo II, 714-716, 1995.

Bouche R. CIRVAL Nº 4, 12 pp., 1998.

Dent J.B. y Thornton P.K. Agric. Admin. Ext. 29, 111-122, 1988.

Hanoq E., Urarte E., Ugarte E., Arrese F., Gabiña D., Arranz J., Oregui L.M., Bravo M.V., y Beltrán de Heredia I., ITEA Volumen 89A Nº 2, 143-161, 1993.

Herrero M., Fawcett R.H., y Dent J.B. EAAP Nº 79, 322-326, 1996.

Ruiz R. Dpto. Agricultura del Gobierno Vasco,Tesis Doctorales, N 39, 328 pp. 2000

Ruiz R.; Oregui, L.M.; Herrero M. Journal of Dairy Science, 83: 2709-2719. 2000

Sørensen J.T., Clausen S., Kristensen A.R., Hindhede J., Kristensen E.S., y Enevoldsen C., EAAP Nº 79, 270-280, 1996.

PRODUCCIÓN HERBÁCEA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y BOTÁNICA DE LOS BREZALES DEL PLA DE LA CALMA (P. N. MONTSENY).

[1]López T. Z., [2]Plaixats J., [2]Bartolomé J., [2]Albanell E.

[1] Colegio de Postgraduados-Campus Puebla. Apdo. Postal 2-12 Col. La Libertad. 72130 Puebla, Puebla. México. [2]Grup de Recerca en Remugants. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autónoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Dentro de la gestión del pastoreo en espacios naturales protegidos, el conocimiento de la disponibilidad de biomasa herbácea con potencial de ser utilizada por el ganado, así como de su composición química y botánica permite conocer las condiciones en que se encuentra la vegetación utilizada por los animales siendo de gran utilidad para el diseño de un sistema de pastoreo adecuado (Nolan y Nastis, 1996). El tipo de comunidad, el mes del año, la distancia al estrato arbóreo o arbustivo y la presión de pastoreo tienen influencia sobre la producción y la calidad nutritiva de la biomasa herbácea (Aldezábal *et al.*, 1996; Fernández *et al.*, 1996; Milchunas et al., 1997; Ovalle y Godron, 1989).

Los objetivos de este trabajo, han sido estimar la disponibilidad y calidad de la biomasa del estrato herbáceo de brezales durante el período primavera otoño.

MATERIAL Y MÉTODOS

El área de estudio se sitúa en el altiplano de la Calma, a una altitud entre 700 y 1.350 m.s.n.m. y de 974 ha de superficie, en el Parque Natural del Montseny (Cataluña), pastoreado tradicionalmente por rebaños de ovejas y cabras. Las dos formaciones vegetales consideradas en este trabajo son las landas de brezo (*Erica scoparia*) y las landas mixtas de brezo y retama de escobas (*Cytisus scoparius*).

La producción de biomasa y composición química se determinaron a partir de muestras obtenidas en 2 jaulas de exclusión de 3 x 3 m^2 separadas 0,5 km en cada tipo de formación durante el período mayo-octubre de los años 1999 hasta 2001. Previo al muestreo, se hizo un corte de uniformización en cada una de las superfícies muestreadas. Las muestras se recolectaron mensualmente mediante cortes sucesivos de una superfície de 0,5 m^2 a 1 cm del suelo. Las muestras se secaron a 70ºC para obtener la producción de biomasa y tras la preparación para su análisis se determinó la MS, MM, MO, PB, FND, FAD y LAD en un equipo NIRS, InfraAlyzer 450 Bran+Luebbe. El contenido en Materia orgánica digestible (MOD) y las Unidades Forrajeras Leche (UFL) se estimaron de acuerdo con la ecuación de Andrieu *et al.* (1981).

La composición botánica del estrato herbáceo se determinó en primavera a partir de dos transectos lineales de 10 m de longitud. En cada uno se realizaron intersecciones cada 10 cm. Se calculó la abundancia de cada especie, la densidad de la vegetación (nº de contactos por punto muestreado) y la diversidad (índice de Shannon). La cobertura arbustiva se obtuvo mediante un transecto lineal de 100 m en cada tipo de vegetación, donde para cada arbusto se registraba la longitud del segmento proyectado en el suelo.

El análisis estadístico, se realizó sometiendo los resultados a análisis de varianza utilizando el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS (1989). Las comparaciones entre medias, se realizaron utilizando LSMEANS, del mismo paquete estadístico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestran los resultados de la producción del estrato herbáceo. Se puede observar que hay una mayor producción en la landa de brezo, siendo significativamente mayor que la landa mixta en primavera y en otoño. La landa mixta, no muestra diferencias significativas en la producción herbácea durante el periodo de estudio. En las dos comunidades, los mayores valores se obtienen en primavera, alcanzan su valor mas bajo en verano y muestran un incremento en otoño siendo éste mas acusado en la landa de brezo.

Tabla 1. Producción mensual de herbáceas (kg MS ha^{-1}) de Landa de brezo y Landa mixta en el Pla de la Calma (mayo-octubre 1999-2001).

	Meses					
	Mayo	Junio	julio	agosto	septiembre	octubre
Landa de brezo	$615,6 \pm 81,1^{a}$	$293,2 \pm 65,1^{bc}$	$66,7 \pm 65,1^{d}$	$142,8 \pm 65,1^{cd}$	$76,5 \pm 65,1^{d}$	$362,4 \pm 71,5^{b}$
Landa mixta	$112,2 \pm 81,1$ ***	$91,3 \pm 65,1$ *	$25,1 \pm 65,1$	$22,1 \pm 65,1$	$16,8 \pm 65,1$	$34,3 \pm 65,1$ **

Los valores son medias ± error estandar
Valores con letras distintas en el superíndice de cada fila son estadísticamente diferentes ($p<0,01$)
* Indica diferencias significativas entre comunidades en el mismo mes *=0,05, **=0,01, ***=0,001

En la tabla 2, se muestran los resultados de la composición química y valor nutritivo de ambas formaciones. Se puede observar que existen diferencias significativas ($p<0,01$) en el contenido de PB el cual es mayor en las herbáceas de landa mixta. A pesar de no haber diferencias significativas, se ha observado un ligero incremento en el contenido de MS en la landa de brezo. El valor nutritivo del estrato herbáceo de los dos tipos de landas es similar, al expresarlo por unidad de superficie, la oferta alimentaria es mayor en la landa de brezo (1057,8 UFL · ha^{-1}) que en la landa mixta (205,22 UFL · ha^{-1}).

Tabla 2. Valores (media ± error estandar) de la composición química y valor nutritivo del estrato herbáceo de brezales en el Pla de la Calma del P.N. del Montseny.

	Landa de brezo n = 35	**Landa mixta** n = 28	**P**
Materia seca (%)	54,65 ± 2,076	47,74 ± 2,267	0,1620
Materia mineral (%)	9,49 ± 0,773	8,91 ± 0,790	0,6566
Proteína (%)	$7,01 \pm 0,270^{b}$	$8,35 \pm 0,287^{a}$	0,0025
Fibra bruta(%)	28,34 ± 0,920	29,72 ± 0,891	0,2250
Hemicelulosa (%)	25,85 ± 0,759	24,21 ± 0,809	0,2302
Celulosa (%)	20,70 ± 1,024	22,27 ± 1,090	0,2637
Lignina (%)	15,66 ± 0,886	15,45 ± 0,867	0,8547
UFL · kg MS^{-1}	0,68 ± 0,008	0,68 ± 0,008	0,9275
MOD (g · kg MS^{-1})	531,26 ± 5,084	532,73 ± 5,192	0,9844

Dentro de cada fila los valores con distinto superíndice son estadísticamente diferentes.
P: nivel de significación.

En la tabla 3, se muestran los resultados de la composición florística y recubrimiento del estrato herbáceo de las dos comunidades . En los transectos de la landa de brezo se identificaron 27 taxones algunos de ellos abundantes, como *Festuca ovina* y *Carex* sp., el índice de diversidad de Shannon es bajo (1,83). Sin

embargo, la densidad vegetal es alta, (3,3 especies por punto muestreado). En la landa mixta, el taxon más abundante es el género *Carex* sp. y algunos arbustos enanos como la brecina (*Calluna vulgaris*), arándano (*Prunus spinosa*) y zarza (*Rubus canescens*). La biodiversidad y la densidad vegetal (1,2) son menores que en el caso anterior. Ambas formaciones presentan una cobertura arbustiva similar, por lo que las diferencias existentes pueden ser debidas al efecto de *Cytisus scoparius* sobre el suelo (iluminación, composición química o estructura).

Se puede concluir que la mayor producción de MS ha^{-1} $año^{-1}$, la mayor oferta alimentaria, la menor abundancia de especies leñosas, la alta densidad vegetal y el bajo porcentaje de suelo sin cobertura indican que el estrato herbáceo de las landas de brezo constituye un mejor recurso pastoral que el de las landas mixtas.

Tabla 3. Composición florística y recubrimiento del estrato herbáceo de brezales en el Pla de la Calma del P.N. del Montseny.

TAXONES	Landas de brezo		Landas mixtas	
	nº contactos	Recubrimiento (%)	nº contactos	Recubrimiento (%)
Festuca ovina	110	16,77		
Carex sp.	98	14,94	68	28,57
Briofitos	85	12,96		
Calluna vulgaris	57	8,69	42	17,65
Prunus spinosa			25	10,50
Rubus canescens			14	5,88
Poa pratensis			10	4,20
Agrostis capillaris	46	7,01		
Otras gramíneas	54	8,23	22	9,24
Leguminosas	24	3,65	6	2,52
Otras herbáceas	182	27,75	51	21,44
TOTAL	656	100,00	238	100,00
Sin cobertura	0	0	64	21,19
Número taxones	27,00		21,00	
Índice de Shannon	1,83		2,11	
Densidad (contactos/punto)	3,3		1,2	
Cobertura estrato arbustivo	68,7		67,0	

AGRADECIMIENTOS

Al Programa SUPERA de México por el financiamiento de una beca doctoral y al convenio con la Diputación de Barcelona. Servei de Parcs Naturals.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIEU J., DEMARQUILLLY C., WEGAT-LITRE E. 1981. *INRA*. Ed C. DEMARQUILLY. Versailles. 345-580.

ALDEZÁBAL A., GARIN, I., GARCÍA-GONZÁLEZ R. 1996. *XXXVI Reunión Científica de la S.E.P.P.* pp.167-171.

FERNÁNDEZ S.B., GÓMEZ G.J.M., GRANDE M.G., TÁRREGA G.R. 1996. *XXXVI Reunión Científica de la S.E.P.P.* pp.107-111.

MILCHUNAS D.G., VARNAMKHASTI A.S., LAUENROTH W.K., GOETZ H. 1995. *Oecología, 101*: 366-374.

NOLAN T., NASTIS A. 1997. *Options Méditerranéennes. Serie A. 34:* 11-25.

OVALLE C., GODRON M. 1989. *Studia Oecológica*, VI: 225-243.

SAS, 1989. SAS User's Guide: Statistic SAS Institute Inc. Cary, NC, (USA).

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2001-02-03

CIHEAM

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	BIOINFORMÁTICA: UTILIZACIÓN DE BASES DE DATOS GENÉTICOS EN MEJORA VEGETAL	17-21 Sep. 01	Zaragoza	IAMZ
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	25 Sep. 01/ 16 Mayo 02	Córdoba	UCO/CAP-JA/ CSIC/INIA/COI/IAMZ
	VIVEROS Y PRODUCCIÓN DE PLANTA FORESTAL PARA CONDICIONES MEDITERRÁNEAS	19-30 Nov. 01	Guadalajara	IAMZ/MIMAM-CNMF
	SISTEMAS DE APOYO A LA DECISIÓN EN AGRONOMÍA: MODELIZACIÓN	14-25 Ene. 02	Zaragoza	IAMZ
	AGRICULTURA DE REGADÍO SOSTENIBLE: GESTIÓN DEL AGUA EN LA AGRICULTURA DE ZONAS SEMIÁRIDAS	11-22 Mar. 02	Zaragoza	IAMZ/AECI
	ELECCIÓN DE CULTIVOS EN CONDICIONES DE SECANO MEDITERRÁNEAS. CRITERIOS TÉCNICOS Y SOCIOECONÓMICOS	6-17 Abr. 02	Argel	IAMZ/ITGC/ ICARDA
	GESTIÓN DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA: SEGUROS AGRARIOS	10-14 Jun. 02	Zaragoza	IAMZ/MAPA-ENESA/OCDE
	*MEJORA GENÉTICA VEGETAL	30 Sep. 02/ 6 Jun. 03	Zaragoza	IAMZ
PRODUCCIÓN ANIMAL	*PRODUCCIÓN ANIMAL	1 Oct. 01/ 7 Jun. 02	Zaragoza	IAMZ
	MEJORA DE LA PRODUCCIÓN DEL DROMEDARIO	4-15 Mar. 02	Rabat	IAMZ/IAV Hassan II
	PRODUCCIÓN DE MOLUSCOS EN PAÍSES MEDITERRÁNEOS	27-31 Mayo 02	Zaragoza	IAMZ/FAO
	*ACUICULTURA	7 Oct. 02/ 4 Abr. 03	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/ IAMZ
	BRUCELOSIS	16-20 Sep. 02	Pamplona	IAMZ/Univ. Navarra/ FAO/OIE/ OMS-MZCP
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL: SISTEMAS Y TÉCNICAS	4-8 Nov. 02	Zaragoza	IAMZ
	NUEVAS TÉCNICAS PARA LA PRODUCCIÓN SOSTENIBLE DE OVINOS Y CAPRINOS EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	9-20 Dic. 02	Túnez	IAMZ/INRAT
	SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CARNE DE CONEJOS	13-24 Ene. 03	Zaragoza	IAMZ
	AVANCES EN REPRODUCCIÓN DE PECES Y SU APLICACIÓN AL MANEJO DE REPRODUCTORES	24-28 Feb. 03	Zaragoza	IAMZ
	NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA LA PRODUCCIÓN DE OVINO DE LECHE	7-11 Abr. 03	Valdepeñas/Ciudad Real	IAMZ/JCCM/ UCLM
	OPTIMIZACIÓN DEL USO DE VACUNAS Y MEDICAMENTOS EN ACUICULTURA MEDITERRÁNEA	12-16 Mayo 03	Izmir	IAMZ/FAO/ MARA
	PRODUCCIÓN AVÍCOLA EN CLIMAS CÁLIDOS	26-30 Mayo 03	Zaragoza	IAMZ

(*) **Cursos de Especialización Postuniversitaria** del correspondiente Programa Master of Science (*marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 02-03; 04-05; 06-07
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 01-02; 03-04; 05-06
- PRODUCCIÓN ANIMAL: 01-02; 03-04; 05-06
- ACUICULTURA: 02-03; 04-05; 06-07
- ORDENACIÓN RURAL EN FUNCIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 02-03; 04-05; 06-07
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 01-02; 03-04; 05-06

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
MEDIO AMBIENTE	INCENDIOS FORESTALES: INVESTIGACIÓN DE CAUSAS Y NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA PREVENCIÓN Y EXTINCIÓN	15-26 Oct. 01	Zaragoza	IAMZ/FAO/ MIMAM-DGCN
	GESTIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS PISCÍCOLAS EN AGUAS CONTINENTALES DE LOS PAÍSES MEDITERRÁNEOS	12-16 Nov. 01	Zaragoza	IAMZ/FAO
	FUENTES ALTERNATIVAS DE AGUA PARA REGADÍO: CONDICIONANTES TÉCNICOS, ECONÓMICOS Y AMBIENTALES	10-14 Dic. 01	Zaragoza	IAMZ
	LA PREDICCIÓN METEOROLÓGICA Y SU APLICACIÓN A LA GESTIÓN AGRÍCOLA SOSTENIBLE EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	19-23 Ene. 02	El Cairo	IAMZ/ARC-CLAC
	MEJORA DE HÁBITATS PARA LA GESTIÓN DE RECURSOS CINEGÉTICOS	18-23 Feb. 02	Zaragoza	IAMZ
	ECOLOGÍA E HIDROLOGÍA DE LOS RÍOS MEDITERRÁNEOS Y HERRAMIENTAS PARA SU GESTIÓN	8-19 Abr. 02	Zaragoza	IAMZ/AECI
	GESTIÓN, RESTAURACIÓN Y APLICACIONES DE LOS HUMEDALES	13-24 Mayo 02	Zaragoza	IAMZ
	*ORDENACIÓN RURAL EN FUNCIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	30 Sep. 02/ 6 Jun. 03	Zaragoza	IAMZ
	DEGRADACIÓN DE SUELOS EN LAS REGIONES AGRÍCOLAS MEDITERRÁNEAS: IMPACTO Y MEDIDAS DE CORRECCIÓN	21 Oct./1 Nov. 02	Rabat	IAMZ/IAV Hassan II/ AECI
	ECONOMÍA DE LOS RECURSOS NATURALES	3-14 Feb. 03	Zaragoza	IAMZ
	GESTIÓN SOSTENIBLE DE LA PESCA ARTESANAL EN EL MEDITERRÁNEO	9-13 Jun. 03	Zaragoza	IAMZ/FAO-COPEMED
COMERCIALIZACIÓN	*MARKETING AGROALIMENTARIO	1 Oct. 01/ 7 Jun. 02	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING DE ACEITE DE OLIVA	14-18 Oct. 02	Rabat	COI/IAMZ/ MADREF
	LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO Y SU IMPACTO EN EL MARKETING INTERNACIONAL AGROALIMENTARIO	18-22 Nov. 02	Zaragoza	IAMZ/OMC
	TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO: RESPUESTA A LOS REQUERIMIENTOS DE SEGURIDAD DE LOS ALIMENTOS	17-21 Mar. 03	Zaragoza	IAMZ
	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO: NORMATIVAS, DENOMINACIONES Y GESTIÓN	24-28 Mar. 03	Zaragoza	IAMZ
	INNOVACIONES EN TÉCNICAS DE INVESTIGACIÓN DE MERCADOS AGROALIMENTARIOS	5-9 Mayo 03	Zaragoza	IAMZ

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización postuniversitaria. No obstante se estructuran en ciclos independientes para facilitar la asistencia de profesionales interesados en aspectos parciales del programa. Los participantes que cumplan los requisitos académicos pueden optar a la realización del 2º año para la obtención del Título Master of Science. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora Genética Vegetal, Ordenación Rural en Función del Medio Ambiente y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2002. El plazo de inscripción para el curso de Olivicultura y Elaiotecnia finaliza el 15 de Abril 2003. El plazo de inscripción para los cursos de Producción Animal y Marketing Agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2003.

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.

Información e inscripción. Los folletos informativos de cada curso se editan 6-8 meses antes de la fecha de inicio. Dichos folletos, así como los correspondientes formularios de inscripción pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Apartado 202 - 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)

Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org

www.iamz.ciheam.org