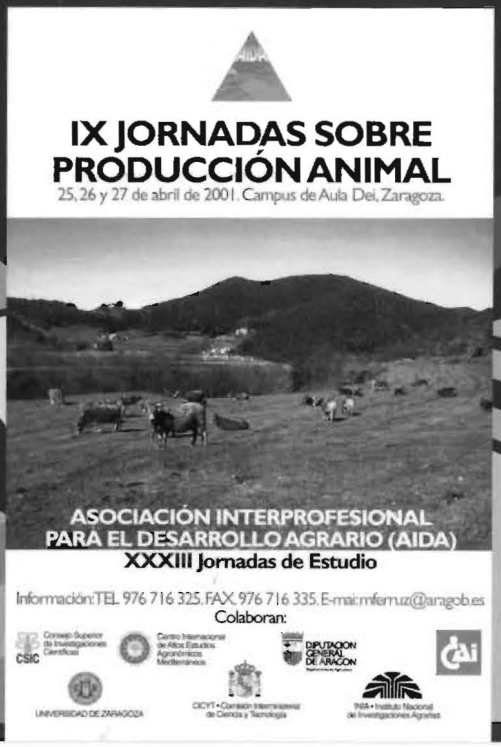
ITEA

Volumen Extra, Número 22 - Tomo I (2001)

IX JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL

ASOCIACION INTERPROFESIONAL
PARA EL DESARROLLO AGRARIO



ASOCIACION INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO (AIDA)

XXXIII JORNADAS DE ESTUDIO

IX JORNADAS

SOBRE PRODUCCION ANIMAL

25, 26 y 27 de abril de 2001

Zaragoza

TOMO I

COLABORAN:

Gobierno de Aragón: Departamento de Agricultura y Medio Ambiente
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)
Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)
Caja de Ahorros de la Inmaculada (CAI)
Universidad de Zaragoza
Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (CYCIT)
Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA)

I T E A

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

SECRETARIO:

PERE ALBERTI LASALLE

COORDINADORES DE SECCION:

Genética: LUIS ALBERTO GARCIA CORTES
Patología: CLARA Mª MARIN ALCALA
Gestión y Economía: MARIA TERESA MAZA RUBIO
Nutrición-Alimentación: ANGEL RUIZ-MANTECON
Sistemas Ganaderos: ALBERTO BERNUES JAL
Calidad de los productos: RAFAEL DELFA BELENGUER
Reproducción: JOSE FOLCH PERA

Secretaría: Mercedes Ferruz Andrés

Abril 2001 Volumen Extra Número 22 tomo I	**DIRECCION Y REDACCION** Montañana, 930 – Apartado 727 50080 - ZARAGOZA	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

PRESENTACIÓN

Bienvenidos a las IX Jornadas sobre Producción Animal organizadas por AIDA en Zaragoza en este año 2001. Un año más nos reunimos fieles a la cita muchos de los que trabajamos en temas relacionados con la ganadería en España.

En estos momentos la ganadería europea, y diría que mundial, está sufriendo una crisis sin precedentes. Por un lado la propagación de la encefaloparía espongiforme bovina (EEB) al continente ha conducido a muchos consumidores, alertados por los medios de comunicación, a la abstinencia de carne de vacuno, lo cual ha ocasionado que la demanda cayese y los precios se derrumbasen, llegando a no existir contratación ni precio en las lonjas agropecuarias. Por otro lado ha aparecido con virulencia la fiebre aftosa en el Reino Unido y se está extendiendo a otros países, causando la inmovilización y el sacrificio de miles de animales y el cierre de fronteras.

Anteriormente existió un problema serio con dioxinas en carne de pollo, y asimismo la carne de vacuno se vio salpicada por escándalos y denuncias por el uso de sustancias prohibidas. Además el consumidor a veces, desconfía de la leche de vaca adulterada, sospecha la adición de sustancias a los pescados para mantener su frescura, teme los residuos de tratamientos fitosanitarios en frutas y hortalizas, etc.

Por otro lado, la simple opción productivista origina excedentes que después la sociedad debe pagar de una forma o de otra.

Muchos de estos problemas podían haberse evitado si hubiesen funcionado los mecanismos de control. Ante todo ello el consumidor se pregunta ¿quién controla y cómo se garantiza la calidad? Se han legislado leyes sobre la trazabilidad de los productos, o sea la garantía de que el producto está controlado desde el campo hasta el plato. Pero indiscutiblemente la aplicación de estos controles exigen medios y personal, y seguramente no siempre hay la dotación correspondiente.

Por otro lado deberíamos hacer valer la técnica por encima de las subvenciones que reciben los productos agrarios. Deberíamos ofrecer y desarrollar técnicas para seguir produciendo alimentos a un coste adecuado para la supervivencia de las explotaciones y para los consumidores, pero adaptando las técnicas para que sean respetuosas con el medio ambiente y que produzcan alimentos con plenas garantías al consumidor.

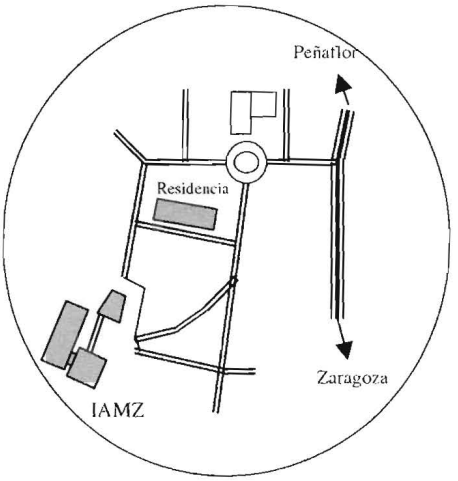
Quisiera finalizar agradeciendo a todos por vuestra valiosa participación, a Merche por su eficacia, a los siete Secretarios de las Secciones, que con su labor han elevado la calidad de las Jornadas, a los moderadores, y a todos los que han colaborado en la organización y desarrollo de esta actividad. Agradezco finalmente a las instituciones que nos prestan sus instalaciones, medios o ayuda económica.

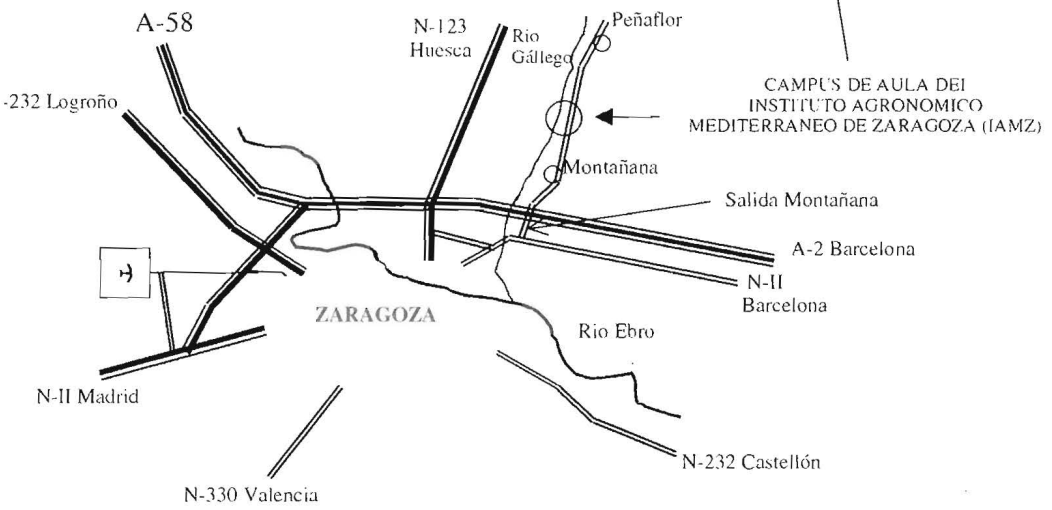
Pere Albertí Lasalle
Secretario de las IX Jornadas sobre Producción Animal.

CIHEAM - Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ)
Carretera de Montañana 177, Apartado 202 - 50080 Zaragoza - España
Tel.: +34 976 576013 – Fax: +34 976 576377 - e-mail: iamz@iamz.ciheam.org

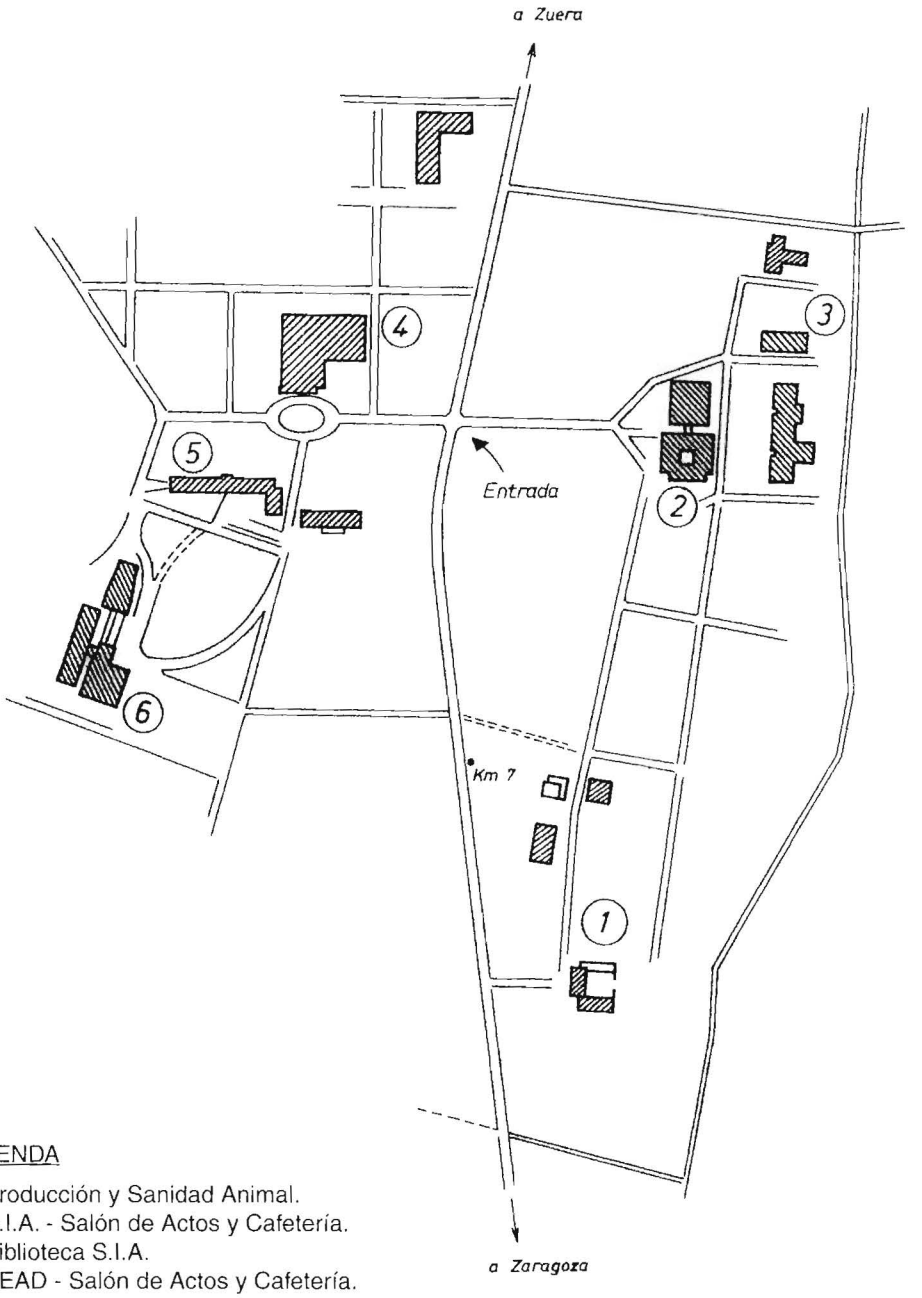
ACCESO AL INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

El Instituto se encuentra situado en el **Campus de Aula Dei,** a unos 15 kms del centro de la ciudad, en el km 7 de la carretera comarcal de Montañana a San Mateo. Para su acceso, si utiliza su propio vehículo, tome la Nacional II, o Autopista 2, dirección Lérida-Barcelona (dirección Zaragoza si viniera de Cataluña) y desvíese en la salida Montañana-Santa Isabel, atraviese la barriada de Montañana y aproximadamente a unos 4 kms encontrará a su derecha el indicador del "Campus" y en la rotonda encontrará el indicador **Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza CIHEAM.**





CAMPUS de AULA DEI



LEYENDA

1. Producción y Sanidad Animal.
2. S.I.A. - Salón de Actos y Cafetería.
3. Biblioteca S.I.A.
4. EEAD - Salón de Actos y Cafetería.
5. Comedor.
6. I.A.M.Z. - Salón de Actos, Otras Salas.

Miércoles, 25 de abril de 2001

	Genética	Patología	Gestión-Economía	Nutrición	Sistemas	Calidad	Reproducción
9	**I N A U G U R A C I Ó N: EXCMO. SR. CONSEJERO DE AGRICULTURA DEL GOBIERNO DE ARAGÓN**						
9.30-10.30	**CONFERENCIA INAUGURAL**: *"La seguridad alimentaria: un problema para la sociedad y una oportunidad para profesionales e investigadores"* ***Autor**: José Francisco Polledo*						
10.30	**Café**						
11	Sesión I QTL L. Gómez-Raya 6 c.		Sesión I E. Manrique 7c	Sesión I Respuesta productiva J. Valderrábano 11c	Sesión I Ovino Caprino A.Mª Olaizola 8c	Sesión I Bovino J.A. Carballo 8c	Sesión I Fisiol. Hembra A. López-Sebastián 6c
12.45	Sesión II Parámetros genét. Mª J. Carabaño 4c						Sesión II Fisiol. Hembra F. Forcada 7c
12.55						Sesión II Bovinos-equinos A.Texeira 7c	
14.30	**COMIDA**						
15.30	Sesión III Genética molecular A.Sánchez 9c			Sesión II Monogástrico R. Carabaño 9c	Sesión III Vacuno A.Sanz 9c	Sesión III Carne bovino C.Sañudo 5c	Sesión III Prod. Embrión Mª T. Paramio 10c
16.55						Sesión IV Adiposos Mª J. Beriaín 5c	
18	**VINO**						

Jueves, 26 de abril de 2001

	Genética	Patología	Gestión Economía	Nutrición	Sistemas	Calidad	Reproducción
9	Sesión IV Miscelanea L.Varona 5c	Sesión I Parasitarias S. Almería 5c	Sesión II Mª T. Maza 5c			Sesión V NIRS De la Roza 10c	Sesión IV Fec. In vitro Mª J. Cocero 8c
10.30	café	café	café	café	café	café	
11	Sesión V Selección J. Piedrafita 7c	Sesión II Infecciosas e inmunologia A.Amorena 8c		Sesión III Digestión I S.López 12c	Sesión III Porcino,aves,conejos D. Villalba 9c	Sesión VI Ovino J.A. Mendizabal 6c	café
11.30							Sesión V Gestación Mª T. Rigau 4c
12.30						Sesión VII Ovino caprino S. Velasco 5c	
12.45							Sesión VI Semen L.Anel 7c
13.30	Sesión Bienestar 1c						
13.50						Sesión VIII Leche queso A.Purroy 3c	
14.30	**COMIDA**						
15.30 – 16.30	**ASAMBLEA GENERAL**						

17	Posters Genética 20p			SesiónIV Digestión II P. Frutos 13c		Sesión IX Porcino J. Tibau 3c	Sesión VII Semen E.Vijil 7c
17.45						Sesión X Aves huevos R. Cepero (5c	

Viernes, 27 de abril de 2001

	Genética	Patología	Gestión-Economía	Nutrición	Sistemas	Calidad	Reproducción
9	Sesión VII Modelos A.Blasco 3c			Sesión V Analítica-Valora-ción L.M.Oregui 6c	Sesión IV Especies salvajes, bienestar, comportamiento R. Revilla 7c	Sesión X Tecnología de la carne J.A. Beltrán 6c+	Sesión VIII Ins. Ovina y Caprina **Video** I.A. Ovina con semen congelado - Mesa redonda I.A. en selec. Ovina y caprina
10	Sesión VIII Distancias M.Toro 2c						
10.30	Café						
11	Reunión	Reunión	Reunión	Reunión	Reunión	Reunión	Reunión
12.00	Resumen Secretarios Sesiones						
	Clausura de las Jornadas						
13.00							

INDICE

TOMO I

Conferencia inaugural: "La seguridad alimentaría: problema para la sociedad y una oportunidad para profesionales e investigadores"
Autor: Dr. Juan José Francisco Polledo

GENETICA

Genética: QTL

- Interacción Sexo-QTL en el cromosoma 8 sobre los caracteres de grasa y crecimiento en porcino.- QUINTANILLA R., MILAN D., BIDANEL J.P. 3

- Asignación de la varianza genética explicada por marcadores para caracteres de lana en ovejas mediante mapeo por segmentos.- PONZ R., MORENO C., ALLAIN D., ELSEN J.M., LANTIER F., LANTIER I., BRUNEL J.C., PEREZ-ENCISO M. 6

- Análisis del cromosoma 6 para regiones genómicas con influencia sobre caracteres de producción de leche en la población española de Frisona.- ALVAREZ L., ARRANZ J.J., HERNANDEZ D., DAVILA B., SAN PRIMITIVO F. 9

- Estudio de la presencia de un gen mayor con efecto sobre la capacidad uterina en conejas ovariectomizadas unilateralmente.- ARGENTE MªJ., ORTEGA J.A., HALEY C.S., VISS-CHER P.M., BLASCO A. 12

- Influencia del genotipo de la β-lactoglobulina ovina sobre caracteres cualitativos y rendimiento quesero individual en la raza Churra.- GUTIERREZ GIL B., ARRANZ J.J., OTHMANE M.H., DE LA FUENTE L.F., SAN PRIMITIVO F. 15

- Análisis de QTLS en caracteres longitudinales.- VARONA L., GOMEZ-RAYA L., RAUW WM., NOGUERA JL. 18

Genética: Parámetros genéticos

- Estimación de parámetros genéticos para caracteres de tipo en la raza Asturiana de los Valles.- GUTIERREZ J.P., ALVAREZ I., GOYACHE F. 21

- Parámetros genéticos y respuestas a diferentes índices de selección de caracteres de morfología mamaria en la raza Latxa.- LEGARRA A., UGARTE E., BELTRAN DE HEREDIA I., ARRANZ J. 24

- Relación genética entre los caracteres de tipo y la rentabilidad de las vacas de leche.- PEREZ M.A., ALENDA R. 27

- Análisis genético de los caracteres velocidad de ordeño, recuento células somáticas y conformación de la ubre.- FERNANDEZ MªT., ALENDA R. 30

Genética: Genética molecular

- Polimorfismo de 13 microsatélites en una línea seleccionada de conejos.- VICENTE J.S., VIUDES-DE-CASTRO M.P., LAVARA R., MOCE E. 33

- Identificación de regiones reguladoras del gen de la miostatina.- ROYO L.J., GROBET L., PONCELET D., PIROTTIN D., MAROT V., BROUWERS B., DUNNER S., GEORGES M. 36

- Identificación de los distintos haplotipos del gen de la miostatina en razas bovinas europeas.- MIRANDA M.E., CAÑON J., MENISSIER F., HANSET R., WILLIAMS J., DUNNER S. 39

- Aplicación del remuestreo en el análisis de datos de DNA Pooling.- CARLEOS A., BARO J.A., CORRAL N., LOPEZ T., CAÑON J. 42

- Utilización de "Pooles" de ADN como herramienta para estimar las frecuencias de los cromosomas X e Y en eyaculados de toro.- CHECA MªL., DUNNER S., CAÑON J. 45

- Localización cromosómica y caracterización del polimorfismo del gen de la 2,4-dienoil-coa reductasa (DECR) porcina.- CLOP A., PÉREZ-ENCISO M., CERCÓS A., TOMÁS A., VARONA L.., NOGUERA JI., SÁNCHEZ A., AMILLS M. 48

- Estearoil coenzima a desaturasa caprina: secuencia del ADN_c, estructura del gen y polimorfismo.- YAHYAOUI MH., SÁNCHEZ A., FOLCH JM. 51

- Estudio de las relaciones de ligamiento entre microsatélites del cromosoma 6 en el ganado ovino de raza Churra.- DIEZ TASCON C., BAYON Y., ARRANZ J.J., SAN PRIMITIVO F. 54

- Localización del gen de la sintasa de ácidos grasos (FASN) bovina en el cromosoma BTA19 (19q22).- ROY R., GUATIER M., HAYES H., LAUREN P., OSTA R., ZARAGOZA P., EGGEN A., RODELLAR C. 57

Genética: Miscelánea

- El uso de la clonación somática en mejora genética animal.- BLASCO A. 60

- Actividad de los enzimas antioxidantes de la carne de conejo.- HERNANDEZ P., LOPEZ A., MARCO M., BLASCO A. 63

- Patrón de resistencia genética al scrapie en ganado ovino de raza Latxa.- SANZ-PARRA A., BARANDIKA J., BELTRAN DE HEREDIA I., ARRESE F., HURTADO A., JUSTE R.A., OPORTO B., GARCIA D., GARCIA-PEREZ A.L. 66

- Aplicación de la espectrometría de masas de ionización por electropray al análisis simultáneo de insulina E IGF-II.- TOR M., VILLALBA D., CUBILO M.D., MOLINA E., VILARO F., ESTANY J. 69

- Cambios de la diversidad genética no autosómica en una población de cerdos ibéricos.- TORO M., RODRIGAÑEZ J., RODRIGUEZ C., SILIO L. 72

Genética: Selección

- Estudio experimental de la eficiencia de un índice de selección reducido a caracteres de producción cuando el objetivo de selección considera también caracteres reproductivos.- CAMPO J.L., TURRADO H. 75

- Respuesta a la selección por tamaño de camada en conejos. I. Componentes del tamaño de camada.- GARCIA M.L., BASELGA M., LAVARA C., VICENTE J.S. 78

- Interacción genotipo x fotoperíodo para caracteres relacionados con el estrés en gallinas ponedoras.- GARCIA DAVILA S., CAMPO J.L. 81

- Estudio de la concentración de progesterona, estradiol y colesterol durante la implantación embrionaria en dos líneas seleccionadas de forma divergente por capacidad uterina en conejo. Primeros resultados.- MOCE M.L., CLIMENT A., BLASCO A., SANTACREU M.A. 84

- Estimación de la respuesta a la selección por capacidad uterina de los componentes del tamaño de camada en conejos.- ORTEGA J.A., ARGENTE M.J., SANTACREU M.A., BLASCO A. 87

- Evolución de la variabilidad genética a nivel molecular en una raza ovina sometida a selección: La raza Manchega.- PEREZ E.M., LOZANO L.M., BOUZADA J.A., GALLEGO R., MONTORO V. 90

- Diferencias de crecimiento entre dos líneas de gallinas de raza Penedesenca Negra y un broiler.- VILLALBA D., CUBILO M.D., TOR M., SOLANES X., MOLINA E., FRANCESCH A., ESTANY J. 93

Genética: Bienestar

- Aspectos genéticos del bienestar en producción animal.- MANTECA X., PIEDRAFITA J. 96

Genética: Posters

- Caracterización citogenética de cinco razas asnales españolas en peligro de extinción.- ALAOUI N., PONSA M., JORDANA J. 100

- Interés de la ecografía en la definición de nuevos criterios de selección en porcino.- ALFONSO L., RIPA C., IRIARTE J.C. 103

- Efectos genéticos y ambientales sobre la estimación indirecta de la calidad del albumen.- CAMPO J.L., GARCIA M., MUÑOZ I., ALONSO M. 106

- Caracterización hematológica, bioquímica y morfológica de cinco razas asnales españolas en pelilgro de extinción.- GARCIA E., CUENCA R., PASTOR J., GOMEZ M., JORDANA J. 109

- Estructura del gen de la miostatina bovina.- ROYO L.J., GROBET L., PONCELET D., PIROTTIN D., MAROT V., BROUWERS B., DUNNER S., GEORGES M. 112

- Análisis del imprinting en caracteres de calidad de canal, carne y ácidos grasos en un cruce F2 Ibérico x Landrace.- VARONA L., SÁNCHEZ A., RODRÍGUEZ M.C., CLOP A., OVILO C., COLL A., BARRAGÁN C., OLIVER M.A., BABOT D., DIAZ I., TORO M.A., FOLCH J.M., PEREZ-ENCISO M., SILIO L., NOGUERA J.L. 115

- Respuesta a la selección por tamaño de camada en conejos. II. Caracteres de crecimiento.- GARCIA M.L., BASELGA M. 118

- Efecto de la fase y del orden de la lactación sobre el contenido en casina de la leche de vaca.- LOPES J.C.O., BRITO A.N.V.B.V., NOVAIS P.M.M. 121

- Efecto de genes de transporte de ácidos grasos FABP3 y FABP4 sobre el contenido de grasa intramuscular y la composición de ácidos grasos en cerdos ibéricos.- OVILO C., DE PEDRO E., BARRAGAN C., GARCIA-OLMO J., CASTELLANOS C., ALVES E., RODRÍGUEZ C., TORO M.A., SILIO L. 124

- Análisis de componentes principales sobre los caracteres de tipo en reproductoras de raza Asturiana de los valles.- GOYACHE F., GUTIERREZ J.P., ALVAREZ I. 127

- Efectos ambientales de influencia sobre la calificación morfológica de reproductoras de raza Asturiana de los Valles.- GOYACHE F., GUTIERREZ J.P., ALVAREZ I. 130

- Estudios genéticos en el Caballo Losino. Resultados Iniciales.- GARCIA R., TEJEDOR C., ARRUGA Mª V., MONTEAGUADO L.V. 133

- Parámetros genéticos de caracteres de calidad de carne y grasa en cerdos ibéricos.- RODRIGUEZ C., DE PEDRO E., GARRIDO A., NUÑEZ N., RODRIGAÑEZ J., FERNANDEZ A., SILIO L. 136

- Caracterización genética de las poblaciones de trucha común autóctona (Salmo trutta) presentes en la Comunidad Autónoma de Aragón.- MONCLUS C., LARRAYAD R., VILLALTA M., BLASCO J.M., CORTEY M., GARCIA-MARIN J.L. 139

- Resultados preliminares sobre la influencia de efectos ambientales en la longevidad del ganado Frisón español usando técnicas de análisis de supervivencia .- CHIRINOS Z., HERNÁNDEZ D., CARABAÑO M.D. 142

- Detección de QTLS en un cruce F2 de cerdo Ibérico x Landrace: composición de ácidos grasos y sus índices metabólicos en el tejido adiposo subcutáneo dorsal .- CLOP A., OVILO C., PÉREZ-ENCISO M., CERCÓS A., TOMÀS A., FERNÁNDEZ A., COLL A., FOLCH J.M., BARRAGÁN C., DÍAZ I., OLIVER M.A., VARONA L., SILIO L., SÁNCHEZ A., NOGUERA J.L. 145

- Influencia del tiempo de almacenaje a –80° y de la temperatura de descongelación, sobre dosis espermáticas porcinas de baja calidad. I Movilidad.- VIDAL A., VALDELVIRA J.J., ALONSO J., GONSALVEZ L.F. 148

- Influencia del tiempo de almacenaje a –80° y de la temperatura de descongelación, sobre dosis espermáticas porcinas de baja calidad. II. Acrosomía.- VALDEVIRA J.J., VIDAL A., ALONSO J., GONSALVEZ L..F. 150

- Valoración genética preliminar de reproductores de ganado caprino lechero de raza Murciano-Granadina.- HERNÁNDEZ D., RUIZ I., PÉREZ-GUZMÁN MªD, FALAGAN A., JURADO J.J. 152

Genética: Modelos

- Efecto del sexo y de la zona de cría sobre el momento óptimo del sacrificio en terneros de raza Barrosâ.- BRITO A.N.V.B.V, LOPES J.C.O., PEREIRA DA SILVA R.M. 155

- Comparación de modelos de regresión aleatoria aplicados a datos longitudinales de producción de leche utilizando factores de Bayes.- LOPEZ-ROMERO P., REKAYA R., CARABAÑO M.J. 158

- Efecto de los grupos genéticos en la estima de parámetros genéticos de la población de Limusín de España.- MORENO A., DIAZ C., CARABAÑO M.J. . 161

Genética: Distancias genéticas

- Relaciones genéticas entre razas asnales españolas a partir del análisis de marcadores microsatélite.- ARAGUREN-MENDEZ J.A., JORDANA J., GOMEZ M. 164

- Aplicaciones de la diversidad marginal y elasticidad de la diversidad de Weitzman.- GARCIA D., CAÑON J. 167

PATOLOGÍA ANIMAL

Patología animal: Enfermedades Parasitarias

- Dinámica de la eliminación de huevos de nematodos gastrointestinales en el ganado ovino en el período de periparto.- LLORENTE Mª M., VALDERRABANO J., URIARTE J. 173

- Efecto de plano de alimentación sobre el desarrollo del parasitismo gastrointestinal en corderas.- VALDERRABANO J., DELFA R., URIARTE J. . 176

- Efecto ovicida y larvicida de ciertos extractos vegetales.- VALDERRABANO J., URIARTE J. 179

- Aplicación de PCR para el diagnóstico de abortos por Toxoplasma en ganado ovino.- HURTADO A., ADURIZ G., MORENO B., BARANDIKA J., GARCIA-PEREZ A.L. 182

- Detección de piroplasmas en ganado vacuno de la isla de Menorca mediante técnicas moleculares.- ALMERIA S., CASTELLA J., FERRER D., SPARAGANO O. 185

Patología Animal: Enfermedades infecciosas e Inmunología

- Comparación de la eficacia de dos pruebas ELISA para el Diagnóstico de la Brucelosis ovina.- MIGUEL Mª J. De, BLASCO J.M., MARÍN C.Mª. 188

- Desarrollo metodológico para la utilización de la pistola de genes en la inmunización frente al virus Maedi-Visna en ovinos Rasa Aragonesa.- GONZALEZ B., LUJAN L., ANDRES S., REINA R., ANDRES D. De, VARGAS A., BADIOLA J.J., AMORENA B. 191

- Comparación de distintas vías de inoculación y dosis vírica necesaria para provocar la infección por Maedi-Visna en ovinos.- GONZALEZ B., LUJAN L., PACHECO C., ANDRES S., REINA R., ANDRES D. De, BADIOLA J.J., AMORENA B. 194

- Importancia del calostro en la transmisión del virus Maedi-Visna.- BERRIATUA E., ALVAREZ V., ARRANZ J., BARANDIKA J., GEIJO M., DALTABUIT M., JUSTE R.A. 197

- Estudio de la concentración de IgG en el calostro de cabras de la agrupación caprina canaria (ACC).- LOPEZ J.L., CASTRO N., CAPOTE J.F., ARGÜELLO A. 200

- Factores explicativos de la variabilidad en la aparición de reacciones positivas al test California y altos recuentos de células somáticas en ganado bovino lechero.- PAJARES G., SANTOS B., LOPEZ S., DIEZ J., FERNANDEZ I., MENENDEZ J., GOYACHE F. 203

- Estudio comparativo de diferentes inóculos vacúnales frente a Mastitis producidas por Staphylococcus aureus.- PEREZ M., MONZON M., COSTA L., AMORENA B. 206

- Efecto de la densidad en las cuadras del matadero sobre el bienestar del ganado vacuno.- RODES D., PALACIO J., SANTOLARIA M.P., ACEÑA M., CHACÓN G., GASCÓN M., GARCÍA-BELENGUER S. 209

GESTION Y ECONOMIA AGRARIA

Gestion y Economía Agraria

- Análisis comparativo de la productividad y del coste de producción entre el sistema de producción porcina a un solo parto y el modelo clásico de cerdas multíparas.- DAZA A., RIOPEREZ J., DE ALBA C., FLOX J.R. 215

- Análisis económico de las explotaciones de ovino de leche de raza Assaf.- LAVÍN, P. , MANTECON A.R., VILLADANGOS B., LOPEZ J., DIEZ P. 218

- Análisis económico de la producción de terneros lechales de raza Parda: comparación de dos niveles de ingestión de leche.- MANTECÓN, A.R., LOPEZ J., CERDEÑO A., GIRALDEZ F.J., LAVIN P. 221

- Evolución y análisis de los datos técnico-económicos en las explotaciones de vacuno de leche en la C.A.P.V. (1996-1999).- NAFARRETE L., MARIJUAN S., ELGARRESTA M., ARRIETA I., LETE J.M., GARMENDIA K., ZURIARRAIN I., GARRO J., SOLAGUREN F., MARTINEZ DE ALBENIZ E., BILBAO K., SANTAMARÍA P., GARRASTAZU A. 224

- Evolución y análisis de los datos técnico-económicos en las explotaciones de ovino de leche en la C.A.P.V. (1997-1999).- NAFARRETE L., MARIJUAN S., ELGARRESTA M., ARRIETA I., LETE J.M., GARMENDIA K., ZURIARRAIN I., GARRO J., SOLAGUREN F., MARTINEZ DE ALBENIZ E., BILBAO K., SANTAMARÍA P., GARRASTAZU A. 227

- Características productivas de las explotaciones de ganado vacuno de carne de la montaña de León.- SERRANO E., LAVIN P., CERDEÑO A., GIRALDEZ F.J., MANTECON A.R. 230

- Rentabilidad económica de las explotaciones de ganado vacuno de carne de la montaña de León.- SERRANO E., LAVIN P., CERDEÑO A., MANTECON A.R. 233

Gestión y Economía Agraria

- Estimación de las entradas y salidas al sistema económico-cinegético de Castilla-La Mancha.- BERNABEU R., OLMEDA M., CASTILLO S. 236

- Estimación de los gastos por actividad del cazador en Castilla-La Mancha.- BERNABEU R., OLMEDA M., CASTILLO S. 239

- La certificación en el sector cárnico: Resultados obtenidos en la auditorias de calidad.- GASPAR, E., MAZA MªT., BERGA A.M., GONZALEZ, M. 242

- Análisis de la notoriedad en quesos.- MESIAS F.J., RODRIGUEZ DE LEDESMA A., ESCRIBANO M., PULIDO F. 245

- Diferencias en las preferencias de los consumidores de distintos tipos de cordero y ternera con distintivos de calidad.- SANCHEZ M., SANJUAN A., AKEL G. 248

NUTRICION-ALIMENTACION ANIMAL

Nutrición-Alimentación Animal: Respuesta productiva

- Efecto de la castración y el extrusionado del concentrado sobre la ingestión y crecimiento de terneros Frisones en cebo intensivo.- SOLANAS E.M., CASTRILLO C., JANACUA H., ENGUITA M., GUADA J.A., SERRANO X. 253

- Rendimientos productivos en terneros lechales: efecto de una restricción de la ingestión en la primera etapa del crecimiento.- MANTECÓN, A.R., LOPEZ J., CERDEÑO A., LAVIN P., GIRALDEZ F.J. 256

- Efecto de una restricción de la ingestión en la primera etapa del crecimiento sobre la composición corporal (canal y "no canal") de terneros lechales.- MANTECÓN, A.R., LOPEZ J., CERDEÑO A., GOMEZ A., VIEIRA C. 259

- Influencia del tiempo de permanencia en la pradera y de las características del concentrado sobre la producción de leche en oveja Latxa: Datos preliminares.- PEROJO A., OREGUI, L.M. 262

- La ingestión de forraje y de concentrado en ovejas de raza Assaf en relación con el nivel de producción de leche y la semana de lactación.- LUIZ RAMELLA J., GONZALEZ J.S., MANTECON A.R., PELAEZ R., LOPEZ S. ... 265

- ¿Existe algún efecto negativo en el cebo de corderos cuando se incluyen taninos hidrolizables, como aditivos, en el pienso?.- RASO M., FRUTOS P., HERVAS G., MANTECON A.R., GIRALDEZ F.J. 268

- Efecto del nivel de ingestión y del sexo en el crecimiento y características de la canal de corderos lechales de raza Assaf.- LANDA, R. , MANTECON A.R.,VIEIRA C., LOPEZ J., GIRALDEZ F.J. 271

- Estudio comparativo del crecimiento y de las características de la canal de corderos alimentados con piensos elaborados con maíz o cebada entera y suplementados o no con forraje.- GIRÁLDEZ GARCIA, F. J., LANDA, R., CERDEÑO, A., FRUTOS, P., MANTECÓN, A.R. 274

- Utilización del aceite de palma en raciones para cebo intensivo de corderos: Ingestión, digestibilidad y rendimientos productivos.- CASTRO T., MANZO T., MANTECON A.R., JIMENO V. 277

- Valor nutritivo de la oferta alimenticia durante el período final de preparación del toro de Lidia.- SANCHEZ-RODRIGUEZ M.E., ALVAREZ SÁNCHEZ-ARJONA S., MARTIN POLO J.L. 280

- Posibilidades del empleo de bolos ruminales de pequeño tamaño para la identificación electrónica de corderos de engorde.- GARIN D., CAJA G., CONILL C. 283

Nutrición-Alimentación Animal: Monogástricos

- Efecto de la edad sobre la digestibilidad ileal de los aminoácidos en cerdos.- TORRALLARDONA D., PUJOL, S., LLAURADO LL., BRUFAU J. 286

- Características de la fermentación en el intestino grueso de cerdos Landrace e Ibéricos alimentados con raciones basadas en maíz o sorgo y bellota.- MORALES J., PEREZ J.F., FONDEVILA M., MARTINEZ-PUIG D., BAUCELLS M.D. 289

- Los extractos de plantas modifican la flora microbiana del intestino delgado de lechones destetados precozmente.- MANZANILLA E.G., MARTIN M., BAUCELLS F., PEREZ J.F., GASA J. 292

- Estimación de la fermentación cecal en cerdos Ibéricos o Landrace alimentados con dietas basadas en bellota o maíz mediante producción de gas in vitro.- FONDEVILA M., MORALES J., PEREZ, J.F., BAUCELLS M.D., GASA J. 295

- Efecto de la inclusión de diferentes combinaciones de ácidos orgánicos en dietas para cerdos en transición sobre sus rendimientos productivos y distintos parámetros digestivos.- FONDEVILA M., RUBIO S., DE VEGA A., MORENO C. 298

- Uso de un concentrado de proteína de patata en dietas para lechones destetados precozmente.- LATORRE M.A., MORS R., COS R., MEDEL P., MATEOS G.G. 301

- Efecto del perfil de ácidos grasos de la dieta sobre diferentes depósitos lipídicos en el broiler.- CRESPO ,N., ESTEVE-GARCÍA, E. 304

- Efecto de la cecotrofia sobre la composición en proteína y aminoácidos del nitrógeno endógeno en el conejo.- GARCIA A.I., ESPINOSA A., DE BLAS C., CARABAÑO R. 307

- Efecto del nivel de fibra y de la sustitución de almidón por lactosa sobre la capacidad enzimática de gazapos destetados precozmente.- GUTIERREZ I., ESPINOSA A., CARABAÑO R., DE BLAS C. 310

Nutrición-Alimentación Animal: Digestión I

- Predicción de la digestibilidad de la planta entera de cebada, consumida por el ganado ovino en estado maduro.- VALIENTE O., DELGADO P., DE VEGA A., GUADA J.A. 313

- La fermentación ruminal en ovejas pastoreando cebada madura en pie.- VALIENTE O., MOTA M., DE VEGA A., GUADA J.A. 316

- Efecto de la relación forraje concentrado en la ración sobre la producción de saliva en el ganado ovino.- PELLITERO M.A., VALDES C., GONZALEZ J.S., CARRO M.D., LOPEZ S. 319

- Evolución de la respuesta en la producción unilateral de saliva parotídea a la inclusión de quebracho en la dieta en ganado ovino y caprino.- SALEM A.Z.M., GONZALEZ J.S., LOPEZ S., RANILLA M.J. 322

- Efecto de la infusión de quebracho en el rumen de ovejas sobre la degradación ruminal y la digestibilidad.- RAMOS G., FRUTOS P., HERVÁS G., GIRÁLDEZ F.J., MANTECÓN A.R. 325

- Efecto del tratamiento de heno de alfalfa con quebracho sobre su digestibilidad en el ganado ovino.- SALEM A.Z.M., GONZALEZ J.S., LOPEZ S., RANILLA M.J., ANDRES S. 328

- Composición química y degradabilidad 'in sacco' de henos de prados permanentes de la montaña de León en relación con la fecha de siega.- ANDRÉS S., GONZÁLEZ J.S., CALLEJA A., LÓPEZ S., CASTRILLO C. 331

- Degradación ruminal de las pulpas de cítricos y de manzana.- ALVIR M^{a}R., PEREIRA J.C., GONZALEZ J., RODRIGUEZ C.A. 334

- Efecto del estado de madurez sobre la degradabilidad ruminal de la proteína seca y proteína bruta de la alfalfa verde.- FARIA-MARMOL J., ALVIR M^{a}R., RODRIGUEZ C.A., GONZALEZ J. 337

- Efectos de los aditivos en ensilado de raigrás italiano sobre la degradabilidad ruminal del nitrógeno.- DE LA ROZA B., MARTINEZ A., MODROÑO S., RODRÍGUEZ C.A., ARGAMENTERIA A. 340

- Efecto de la relación gramíneas-leguminosas sobre el tránsito digestivo del heno de veza-avena en ovino.- RUBIO J., GONZALEZ J., ALVIR MªR., RODRIGUEZ C. 343

- Estimación de la síntesis de proteína microbiana en vacas en lactación.- GONZALEZ RONQUILLO M., BALCELLS J., VICENTE F., MOTA M. 346

Nutrición-Alimentación Animal: Digestión II

- Modificación de la fermentación ruminal in vitro de Lolium perenne cuando se suplementa con diferentes dosis de grasa.- HERVÁS G., WILLIAMS B.A., BOER H., TAMMINGA S. 349

- Infusión de diferentes dosis de quebracho durante 21 días en el rumen de ovejas: efecto sobre la fermentación ruminal in vitro.- HERVÁS G., FRUTOS P., ÁLVAREZ DEL PINO M.C., MANTECÓN A.R., GIRÁLDEZ F.J. 352

- Efecto del contenido de taninos en la degradación ruminal in vitro de varios órganos de especies arbustivas.- ALVAREZ DEL PINO M.C., FRUTOS P., HERVAS G., GOMEZ A., GIRALDEZ F.J., MANTECON A.R. 355

- Composición química, botánica y digestibilidad in vitro de forrajes de prados permanentes en relación con la fecha de la siega.- BOCHI O., LOPEZ S., GARCIA R., CALLEJA A., PEREZ M., GONZALEZ J.S. 358

- La digestibilidad in vitro de las hojas de especies arbustivas: variaciones estacionales y respuesta a la adición de PEG.- AMMAR H., LOPEZ S., RANILLA M.J., TEJIDO M.L., GONZALEZ J.S. 361

- Efecto del pH sobre la fermentación microbiana y el flujo de nutrientes en un sistema de doble flujo continuo.- CARDOZO P.W., CALSAMIGLIA S., FERRET A. 364

- Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre la fermentación ruminal y el metabolismo del N in vitro.- RODRIGUEZ Mª, CALSAMIGLIA S., FERRET A. 367

- Estudio del perfil y flujo de aminoácidos de origen bacteriano en un sistema de cultivo continuo. Efecto del nivel de fibra y el tamaño de la partícula.- RODRIGUEZ Mª, CALSAMIGLIA S., FERRET A. 370

- Determinación de la digestibilidad in vitro de alimentos utilizando efluente de fermentadores como inóculo: efecto de la ración basal incubada en los fermentadores.- TEJIDO, M.L., RANILLA M.J., CARRO M.D. 373

- Comparación de la fermentación microbiana en el rumen de ovejas y en fermentadores semicontinuos (RUSITEC).- RANILLA, M.J., TEJIDO M.L., CARRO M.D. 376

- Efecto de la fuente nitrogenada sobre la síntesis microbiana y la fermentación in vitro de distintos tipos de pared celular.- RANILLA, M.J., LOPEZ S., CARRO M.D. 379

- Comparación de diversos métodos de desligamiento de bacterias ruminales asociadas a la fase sólida de la digesta en un sistema in vitro (RUSITEC).- RANILLA M.J., CARRO M.S., TEJIDO M.L. 382

- Utilización del ^{15}N y de las bases púricas como marcadores para estimar la síntesis microbiana in vitro.- TEJIDO M.L., CARRO M.D., RANILLA M.J., ARIN M.J., LOPEZ S., DIEZ M.T. 385

Nutrición-Alimentación Animal: Analítica-valoración

- Efecto de las condiciones de conservación sobre la estabilidad de muestras de cebada molida.- GÓMEZ-CABRERA, A., ISAC M.D., ARANA M.J., FERNANDEZ V., PEREZ D.M. 388

- Efecto de las características del suelo sobre la composición química de los pastos de montaña en Palencia.- ACERO ADAMEZ, P. 391

- Efecto de las características del suelo sobre el contenido en minerales de los pastos en la zona de la montaña de Palencia.- ACERO ADAMEZ, P. .. 394

- La utilización de polisacaridasas mejora la accesibilidad de los enzimas proteolíticos sobre la torta de soja.- OUHIDA I., MARTINEZ-PUIG D., PEREZ J.F., SALA R., GASA J. 397

- Aplicación de la espectrometría de masas de ionización por electrospray al análisis simultaneo de insulina e IGF-II.- TOR M., VILLALBA D., CUBILÓ M.D., MOLINA E., VILARÓ F., ESTANY, J. 400

- Degradación del ADN de soja transgénica incubada 'in vitro' con enzimas digestivos estimada mediante QC-PCR.- MARTIN-ORÚE S.M., ARIÑO J., BARCELO A., MATHERS J., GILBERT H.J. 403

RELACION DE AUTORES

ABECIA J.A.,733,736
ACABEDO E.,673
ACEÑA M.,209,493,496
ACERO ADAMEZ P. ,391,394
ADURIZ G.,182
AGUILAR B.,760,763,769,790
AKEL G.,248
ALABART J.L.,745,760,763,766,769,790,808,817
ALAOUI N.,100
ALBANELL E.,655
ALBERTÍ P.,511,574,583
ALBIÑANA B.,751
ALCAIDE V.,766
ALENDA R. ,27,30,
ALFONSO L.,103,688
ALIAGA S.,682
ALLAIN D.,6
ALMERIA S.,185
ALONSO C.,463
ALONSO J.,148,150,544,547,550,838
ALONSO M. ,106
ÁLVAREZ DEL PINO M.C.,352,355
ÁLVAREZ I.,21,127,130,544,547
ÁLVAREZ L.,9
ÁLVAREZ M.,757,820,856
ÁLVAREZ SÁNCHEZ-ARJONA S.,280,517,520
ÁLVAREZ V.,197
ALVES E.,124
ALVIR MªR.,334,337,343
ALZÓN M.,436,583,634
ALZUETA M.J.,553,565,637
AMILLS M. ,48
AMMAR H.,361
AMORENA B. ,191,194,206
ANARTE J.M.,409, 412
ANDRES C. ,673
ANDRES D. De,191,194
ANDRES S.,191,194,328,331
ANDUEZA J.D.,586,607
ANEL E.,757,820,856
ANEL L.,757,820,856
ANGUERA R. ,667
ARAGUREN-MENDEZ J.A.,164
ARANA A.,583,634,640,688
ARANA M.J.,388

ARANIBAR M.J.,481
ARES J.L.,595,598
ARGAMENTERIA A. ,340
ARGENTE Mª J.,12,87
ARGÜELLO A. ,200,646
ARIN M.J.,385
ARIÑO J.,403
ARNAL C.,685
ARRANZ J.J. ,9,15,24,54,197,649
ARRESE F.,66,721,766
ARRIETA I.,224,227
ARRUGA Mª V.,133
ASENJO B.,670,673
AVELLANET R.,421
AZEVEDO J.,718
BABOT D.,115,457,475,478
BADIOLA J.J.,191,194
BAHAMONDE A.,544,547,550
BALCELLS J.,346
BALLESTEROS J.A.,451
BARANDIKA J.,66,182,197
BARBOZA Y.,694,697
BARCELO A.,403
BARO J.A.,42
BARRAGAN C.,115,124,145
BARRIOS B.,844
BARROETA A.C.,676,679
BARTOLOMÉ J.,415
BASELGA M.,78,118
BATISTA M.,814
BAUCELLS F.,292,472
BAUCELLS M.D. ,289,295,472,679
BAYON Y.,54
BELTRAN DE HEREDIA I.,24,66,721,766,859
BENITO R. ,604
BERGA A.M.,242
BERIAIN M.J.,553,565,637,640
BERNABEU R.,236,239
BERNUÉS A.,433,436,439,727,730
BERRIATUA E.,197
BIDANEL J.P. ,3
BILBAO K.,224,227
BLANCO ROA N.E.,541,658
BLASCO A. ,12,60,63,84,87
BLASCO J.M.,139,188
BLAZQUEZ B.,568,625,643
BOCHI O.,358

BODIN L.,859
BOER H.,349
BOIXO J.C. ,652,757,820,856
BORREGO S.,448
BOUZADA J.A.,90
BRITO A.N.V.B.V.,121,155,514
BROUWERS B.,36, 112
BRUFAU J. ,286
BRUNEL J.C.,6
BUSTILLO L.,694
BUXADÉ C. ,463
CABALLERO DE LA CALLE J.R.,442,487
CABALLERO J.V. ,487
CABELLOS CABALLERO B.,739,742
CABRERA E.,814
CADAVEZ V.,616,619,622
CAJA G.,283
CALERO P.,814
CALLEJA A.,331,358
CALSAMIGLIA S.,364,367,370
CALVO J.H.,691
CAMPO J.L.,75,81,106
CAMPO M.M.,574
CAÑEQUE V.,625,628
CAÑON J.,39,42,45,167
CAPOTE J.F.,200,646
CARABAÑO M.D. ,142
CARABAÑO M.J. ,158,161
CARABAÑO R. ,307,310
CARBALLO J.M.,556,559,562
CARDOSO M. ,718
CARDOZO P.W.,364
CARLEOS A.,42
CARNEIRO G.F.,805
CARRIÓN E. ,442
CARRIZOSA J.A.,754
CARRO M.D.,319,373,376,379,382,385
CASALS R.,655
CASASÚS I.,433,436,439,727,730
CASTELLA J.,185
CASTELLANOS C.,124
CASTILLO S. ,236,239
CASTRILLO C.,253,331,571
CASTRO N.,200
CASTRO P. ,535
CASTRO T.,277
CEBRIAN PÉREZ J.A. ,844,847,850,853

CEPERO R.,505
CERCÓS A.,48,145
CERDEÑO A.,221,230,233,256,259,274,523,526,529,532,577
CHACÓN G.,209,499
CHAMORRO C.A.,856
CHASCO J.,640
CHECA Mª L. ,45
CHEMINEAU P.,859
CHERTOUH T.,418
CHIRINOS Z.,142
CIRIA J. ,454,457,670,673
CLIMENT A.,84
CLOP A.,48,115,145
COCERO Mª J.,754,760,763,766,769,790,793
COGNIE Y.,763
COLL A.,115,145
CONILL C. ,283
CORRAL N.,42
CORREIA T. M.,718
CORTEY M.,139
CORTINAS L.,679
COS R.,301
COSTA L.,206
COY P,799,802
CRESPO N.,304
CUBILÓ M.D.,69,93,400,667
CUENCA R.,109
DALTABUIT M.,197
DAVILA B.,9
DAZA A.,215,448,460,463,466
DE ALBA C.,215
DE BLAS C.,307,310
DE LA FUENTE J.,775,787,823
DE LA FUENTE L.F.,15
DE LA ROZA B.,340,601
DE PEDRO E.,124,136,604,607,610,613
DE VEGA A.,298,313, 316
DEL CAMPO VECINO A.,739,742,793
DELCLAUX M.,823
DELFA R.,176,616,619,622
DELGADO N. ,529,589
DELGADO P.,313
DEMO P.,541,658
DIAZ C.,161,784
DIAZ DELFA C.,754
DIAZ I.,115,145
DIAZ M.T.,625,628

DIAZ-SIERRA C. ,526
DIEZ J.,203,544,547,550
DIEZ M.T. ,385
DIEZ P. ,218,424
DIEZ TASCON C.,54
DOMINGUEZ V.,793
DUNNER S.,36,39,45,112
DUQUE P.,784
ECHEGOYEN E.,745,763,769
EGGEN A.,57
EGUINOA P. ,436,553,565,583,634,637
ELGARRESTA M.,224,227
ELSEN J.M.,6
ENGUITA M.,253
ERBURU J.A.,634
ESCODA L.,667
ESCRIBANO M.,245,409,412
ESPEJO M.,415
ESPINOSA A.,307,310
ESTANY J. ,69,93,400
ESTEVE-GARCÍA E. ,304
FABREGAS X.,700,703,706,709
FACAL N.,784
FALAGAN A.,152
FARIA-MARMOL J.,337
FERNÁNDEZ A.,136,145
FERNÁNDEZ I.,203
FERNÁNDEZ M.,544,547
FERNÁNDEZ Mª T. ,30
FERNÁNDEZ TEJON J.,544,547
FERNÁNDEZ V.,388
FERNÁNDEZ-ARIAS A.,745,808,817
FERRER D.,185
FERRER K.,694
FERRET A. ,364,367,370
FLOX J.R. ,215, 469
FOLCH J.,745,760,763,766,769,790,808,817
FOLCH JM. ,51,115,145
FONDEVILA M.,289,295,298
FORCADA F.,733,736
FRANCESCH A.,93,667
FRUTOS P.,268,274,325,352,355
FUENTES S.,766,775
GADEA J.,799,802,829
GALLEGO L. ,490,631,748,751
GALLEGO R.,90
GALOBART J.,679

GALVAO L.,718
GARBAYO J.Mª. ,811
GARCÍA A.,490
GARCÍA A.I.,307
GARCÍA A.J.,748,751,820
GARCÍA C.,856
GARCÍA D.,66,167
GARCÍA DAVILA S.,81
GARCÍA E.,109
GARCÍA GARCÍA R.M.,754
GARCÍA M.,106
GARCÍA M.J.,535
GARCÍA M.L.,78,118
GARCÍA P.,538
GARCÍA PALOMA J.A.,724
GARCÍA R.,133,358,451
GARCÍA S.,499
GARCÍA-BELENGUER S. ,209,493,496
GARCÍA-CACHÁN M.D.,415,577,580
GARCÍA-CERVIGON M.,766
GARCÍA-GARCÍA R.M.,739,793
GARCÍA-MARIN J.L. ,139
GARCÍA-OLMO J.,124,604,607,610,613
GARCÍA-PÉREZ A.L. ,66,182
GARDE J.J., 748,751,820
GARIN D.,283
GARMENDIA K.,224,227
GARRASTAZU A. ,224,227
GARRIDO A.,136,586,589,592,598,604,607,610,613
GARRO J.,224,227
GASA J. ,292,295,397,472,676
GASCÓN M.,209,493,496
GASPAR E.,242
GEIJO M.,197
GEORGES M. ,36,112
GIL M.C.,826
GILBERT H.J. ,403
GIRÁLDEZ F. J.,221,230,256,268,271,274,325,352,355,529
GISPERT M.,661,664
GÓMEZ A.,259,355,523,532
GÓMEZ BRUNET A. ,739,742
GÓMEZ CABRERA A.,388,451,589,592
GÓMEZ E.,772,784
GÓMEZ J.A.,490,748,751
GÓMEZ M.,109,164
GÓMEZ-RAYA L.,18
GOÑI V.,553,565,637

GONSALVEZ L.F. ,150,148,838
GONZÁLEZ B.,191,194
GONZÁLEZ F.,814
GONZÁLEZ J.,334,337,343,661,664
GONZÁLEZ J.S.,265,319,322,328,652,331,358,361
GONZÁLEZ M. ,242
GONZÁLEZ R.,463
GONZÁLEZ RONQUILLO M.,346
GONZÁLEZ-BULNES A.,739,742,754,793
GONZÁLEZ-STAGNARO C.,715,841
GORRAIZ C.,553,565,637
GOYACHE F. ,21,127,130,203,544,547,550
GRACIA A.,814
GRACIA M.I.,481
GRASA P.,847
GROBET L.,36,112
GUADA J.A.,253,313,316
GUATIER M.,57
GUERRA C.,757
GUERRERO GINEL J.E.,589,592
GUIRAO J.,580
GUTIÉRREZ GIL B.,15
GUTIÉRREZ I.,310
GUTIÉRREZ J.P.,21,127,230
GUTIÉRREZ-ADAN A.,787
HALEY C.S.,12
HANSET R,39
HAYES H.,57
HERNÁNDEZ D.,9,142,152
HERNÁNDEZ P.,63
HERNANDIS A.,505
HERRÁIZ P.L.,415
HERVAS G.,268,355,325,349,352
HETENYI L.,541,658
HIDALGO C.,784
HORCADA A.,565,640
HUBA J.,541,658
HURTADO A.,66,182
INDURAIN G.,553,565,583,637
IRIARTE J.C. ,103
ISAC M.D.,388
JANACUA H.,253
JIMENO V. ,277
JORDANA J.,164,100,109,421
JURADO J.J., 152
JUSTE R.A.,66,197
KAABI M.,856

LAHOZ F. ,511
LANDA R.,271, 274
LANDETE-CASTILLEJOS T.,490,748,751
LANTIER F.,6
LANTIER I.,6
LARRAYAD R.,139
LARREA I.,553
LATA R.,691
LATORRE M.A.,301
LAUREN P.,57
LAUZURICA S.,625,628
LAVARA C.,78,33
LAVÍN P. ,218,221,230,233,256,424
LEGARRA A.,24,649
LETE J.M.,224,227
LIU I.K..M. ,805
LIZARDO R.,664
LLAURADÓ LL.,286
LLORENTE MªM.,173
LOPES J.C.O.,121,155,514
LÓPEZ A.,63,748,820
LÓPEZ BOTE C.J.,466
LÓPEZ J., 218,221,256,259,271,523,526,529,532
LÓPEZ J.L.,200,646
LÓPEZ M.,823,685
LÓPEZ S.,203,265,319,322,328,331,358,361,379,385,544,547,550,652
LÓPEZ SÁNCHEZ M. ,484
LÓPEZ T.,42
LÓPEZ-BEJAR M.,778,781,796
LÓPEZ-GATIUS F.,778,781
LÓPEZ-ROMERO P.,158
LÓPEZ-SEBASTIAN A.,739,742,754
LORENZO P.L.,805
LOZANO L.M.,90
LUIZ RAMELLA J.,265,652
LUJAN L.,191,194
MACIE E.S.,574
MADRID-BURY N. ,715,787,841
MANDALUNIZ N.,445
MANRIQUE E.,418,439
MANSO A.,766
MANTECA X.,96
MANTECÓN
A.R.,218,221,230,233,256,259,265,268,271,274,277,325,352,355,424,526,529,523,5
577,652
MANZANARES C. ,625,628
MANZANILLA E.G.,292

MANZO T.,277
MARCO M.,63
MARÍA G.,499,502,505
MARICHAL A.,646
MARIJUAN S.,224,227
MARÍN C.Mª. ,188
MAROT V.,36,112
MARQUEZ E.,697,694
MARTI E.,853
MARTI J.I.,853
MARTIN M.,292,553
MARTIN POLO J.L. ,280
MARTÍNEZ A.,340,535,538
MARTÍNEZ A.F.,820
MARTÍNEZ CEREZO S.,571,574
MARTÍNEZ DE ALBENIZ E.,224,227
MARTÍNEZ M.J.,538,601
MARTÍNEZ Mª.L.,451
MARTÍNEZ S.,856
MARTÍNEZ-PUIG D.,289,397
MARTÍNEZ-ROLLON R.S. ,529
MARTIN-ORÚE S.M.,403
MARZO A.,847
MATAS C.,799,802
MATEOS G.G. ,301,481
MATHERS J.,403
MATOS S.,616,619,622
MAURICIO R.,718
MAZA MªT.,242
MEDEL P.,301
MENDIZABAL J.A.,583,634,640
MENDONÇA A.,718
MENENDEZ J.,203
MENISSIER F.,39
MESIAS F.J.,245,409,412
MIGUEL E.,568,643
MIGUEL J.A.,670,673
MIGUEL MªJ. De,188
MILÁN D. ,3
MILÁN M.J.,415
MINTEGI L.,766
MIRANDA M.E.,39
MOCE E. ,33
MOCE M.L.,84
MOCHA M.,538,601
MODROÑO S.,340
MOLINA E.,69,93,400

MONCLÚS C.,139
MONSERRAT L.,556,559,562
MONTEAGUADO L.V. ,133
MONTES A.,538
MONTÓN I.,454,457
MONTORO V. ,90,430
MONZÓN M.,206
MORALES J.,289,295
MORENO A.,161,182
MORENO C.,6,298
MORS R.,301
MOTA M.,316, 346
MOUROT J.,664
MUIÑO-BLANCO T.,844,847,850,853
MUÑOZ F.,586,607
MUÑOZ I.,106
NAFARRETE L.,224,227
NOFRARÍAS M.,472
NOGUERA J.L. ,18,48,115,145,460
NOVAIS P.M.M. ,121
NOVAL G.,544,547
NUÑEZ Mª N.,136,595,598
OHMANE M.H.,15
OLAIZOLA A. ,418
OLIETE B.,556,562,559
OLIVÁN MªC., 535,538, 601
OLIVER F.,430
OLIVER M.A.,145,155
OLIVERA J.,760,763,766,769
OLLETA J.L.,511,571,574
OLMEDA M.,236,239
OLMEDO J.A.,757
ONEGA E.,568,625,628,643
OPORTO B.,66
OREGUI L.M,427,445,262
ORTEGA J.A.,12,87
OSORO K.,535,538
OSTA R.,57
OTER M.,787,823
OUHIDA I.,397
OVEJERO I.,448,466
OVILO C.,115,124,145
PACHECO C.,194
PAJARES G.,203
PALACIO J.,209,493,496
PALOMO PEIRO Mª J.,835
PANEA B.,511,571,574

PARAMIO MªT.,796
PARDOS J.J.,574
PARERA J.,475
PARRA J.,454,457
PASTOR J.,109
PAZ F.,589,592
PAZ P.,757,820
PEINADO B.,799
PELAEZ R.,265
PELLITERO M.A.,319
PEÑA E.,748
PEÑA J.C.,487
PEREIRA DA SILVA R.M. ,155,514
PEREIRA E.,616,619,622
PEREIRA J.C.,334
PÉREZ C.,625,628
PÉREZ D.M. ,388
PÉREZ DE ARENAZA A. ,427, 553
PÉREZ E.M.,90,430
PÉREZ J.F.,289,292,295,397
PÉREZ M.,206,358
PÉREZ M.A.,27
PÉREZ MARIN MªD.,589,592,598,610
PÉREZ-ENCISO M. ,6,48,115,145
PÉREZ-GARNELO S.,787,823
PÉREZ-GUZMÁN MªD,152,430
PÉREZ-PE R.,844,847,850
PEROJO A.,262
PIEDRAFITA J. ,96,415
PIROTTIN D.,36,112
PLA M. ,682
PLÀ L.M.,478
POL MªV.,655
POLAK P.,541
POMAR J. ,478
PONCELET D.,36,112
PONSA M.,100
PONZ R.,6
POTO A.,799
POULIN N.,790
PRIETO L.,826
PUIGDOMENECH A.,607
PUIGVERT X.,661
PUJOL S.,286
PULIDO F. ,245,409,412
PURROY A. ,583,634,637,640
QUESADA E.,814

QUINTANILLA R. ,3,415
QUINTERO-MORENO A.,832,835
RAMOS G.,325
RANILLA M.J. ,322,328,361,373,376,379,382,385
RASO M.,268
RATH D.,802
RAUW WM.,18
REBOLLAR P.G.,805
REINA R.,191,194
REKAYA R.,158
REVILLA R. ,433,439,493,496,727,730
RIGAU i MAS T.,832,835
RINCON-CARRUSO X.,676
RIOPÉREZ J.,215,466
RIPA C.,103
RIVERA DEL ALAMO Mª M.,832,835
ROCHE A.,763,766,769
RODELLAR C. ,57
RODES D.,209
RODRIGAÑEZ J.,72,136,613
RODRIGUES S.,616,619,622
RODRÍGUEZ C.,72,136,124,343,757
RODRÍGUEZ C.A. ,334,337,340
RODRÍGUEZ DE LEDESMA A.,245,409,412
RODRÍGUEZ M.C.,613,115
RODRÍGUEZ Mª,367,370
RODRÍGUEZ-GIL J.E. ,832,835
RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ E.,796
RODRÍGUEZ-URBINA M.,715,841
ROMAN R.,694,697,799,802
ROY R.,57
ROY T.J. ,826
ROYO L.J.,36,112
RUBIO J.,343
RUBIO S.,298
RUIZ DE HUIDOBRO F. ,568,625,628,643
RUIZ I.,152
RUIZ J.,694,697
RUIZ M.T. ,670
RUIZ R.,427
RUIZ S.,799, 802,829
RUTLLANT J.,778,781
SALA R.,397,676
SALEM A.Z.M.,322,328
SAN PRIMITIVO F.,9,15,54
SÁNCHEZ A.,48,51,115,145
SÁNCHEZ C.,451

SÁNCHEZ GONZÁLEZ J. ,598
SÁNCHEZ L.,559,556,562
SÁNCHEZ M.,248
SÁNCHEZ P.,769,808,745
SÁNCHEZ-RECIO J.M.,415
SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ M.E.,280
SANJUAN A.,248
SANTACREU M.A. ,84,87
SANTAMARÍA C.,634
SANTAMARÍA P.,224,227
SANTA-MARTINA J.,541,658
SANTIAGO-MORENO J.,739,742,754,793
SANTOLARIA M.P.,209,778,781
SANTOS B.,203
SAÑUDO C.,499,511,571,574
SANZ A.,433,436,439,727,730
SANZ-PARRA A.,66
SARRIES V.,553,565,637
SEGARRA J.,625,628
SELLES E.,799,802,829
SERRADILLA J.M.,595,598
SERRANO E.,230,233,424,523,532
SERRANO X.,571,253
SEVILLA E.,850
SIEG B.,802
SIERRA I.,499
SILIO L. ,72,115,124,136,145,613
SLIMENE A.,499,502
SLONIEWSKI K. ,541
SOLAGUREN F.,224,227
SOLANAS E.M.,253
SOLANES X.,93
SOLER A.J.,748,820
SOLER J.,661,664
SOLIS M.,613
SORET B.,583,640,688
SPARAGANO O. ,185
SUCH X. ,655,700,706,709
TALAVERA C.,823
TAMMINGA S. ,349
TEIXEIRA A. ,616,619,622
TEJEDOR C.,133
TEJIDO M.L.,361,373,376,382,385
TIBAU J. ,661,664
TOMÁS A.,48,145
TOMÁS P.,829
TOR M.,69,93,400,667

TORO M.,72,115,124
TORRALLARDONA D.,286
TURRADO H. ,75
UGARTE E.,24,721,859
UREÑA F.,544,547
URIARTE J. ,173,176,179
URRUTIA B.,754
VALARES J.A. ,733,736
VALDELVIRA J.J.,148,150,838
VALDERRÁBANO J.,173,176,179
VALDES C.,319
VALENTIM R.C.,718
VALIENTE O.,313,316
VARELA A.,556,559,562
VARGAS A.,191
VARONA L.,18,48,115,145
VELASCO S.,625,628
VELILLA E.,796
VERGARA H.,631
VICENTE F.,346
VICENTE J.S.,33,78
VIDAL A.,148,150,838
VIDAL J.,460,475
VIDAL M.,460
VIEIRA C. ,259,271,526,577,580
VILA B.,676
VILARO F.,69,400
VILLA TERRAZAS A. ,724
VILLADANGOS B.,218,424
VILLALBA D.,69,93,400
VILLALTA M.,139
VILLANUEVA I.,637
VILLARROEL M.,499,502
VISSCHER P.M.,12
VITTO R.,454,457
VIUDES-DE-CASTRO M.P.,33
WILLIAMS B.A.,349
WILLIAMS J.,39
YAHYAOUI MH.,51
YANIZ J.,778,781
ZARAGOZA P.,57,691
ZULET M.,565
ZUÑIGA O.,736,733
ZURIARRAIN I.,224,227

La seguridad alimentaria: un problema para la sociedad y una oportunidad para profesionales e investigadores

Juan-José Francisco Polledo
Doctor en Veterinaria y Licenciado en Derecho. Miembro del Cuerpo Nacional Veterinario

La vertiginosa sucesión de crisis alimentarias, o de situaciones de alarma ciudadana, registradas durante los últimos años, y la enorme atención que han merecido de los medios de comunicación, lo que ha generado inéditas turbulencias en los mercados de productos alimenticios (y en los precios de éstos), aconseja efectuar recapitulaciones reflexivas respecto al problema de la seguridad alimentaria, especialmente en los ámbitos universitarios y de la comunidad científica.

El término *seguridad alimentaria* (en lo sucesivo SA) no es unívoco y conviene señalar que, por ejemplo, en el entorno FAO y en los países del cono sur, este término hace referencia a las políticas o iniciativas tendentes a garantizar un suministro cuantitativamente suficiente de productos alimenticios para la población. Es decir, hace referencia a la lucha contra la malnutrición. Sin embargo, en el contexto europeo, lo utilizamos para el entorno de las enfermedades transmitidas por los alimentos.

Desde esa óptica, la SA es un objetivo, cuya consecución compromete la utilización de las mejores herramientas técnicas y científicas y es también un sistema, que engloba tanto recursos públicos como privados.

Como objetivo, existe en estos momentos en Europa un consenso generalizado de que es doble:

1º.- Garantizar que el riesgo de enfermar como consecuencia de la ingestión de un alimento o de una bebida es negligible, despreciable.

2º.- Evitar que los consumidores, a la hora de efectuar sus decisiones de compra, introduzcan el criterio de la seguridad. Es decir, que los consumidores estén inmersos en un estado intelectual de confianza que les permita considerar que todos los productos que se le ofrecen en el mercado son seguros.

Cuando se fracasa en la consecución del primero de los objetivos, nos encontramos ante un brote epidemiológico. Cuando es el segundo el que falla, estamos ante una crisis alimentaria.

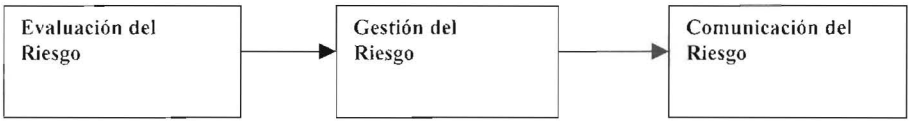
Contrariamente a lo que pudiera considerarse, estas dos circunstancias no están linealmente relacionadas, es decir, no sólo se produce alarma social cuando se ha expresado un riesgo, cuando ha habido un brote epidemiológico, y, en la otra dirección, no siempre que se expresa un riesgo genera alarma social.

La coincidencia o la proporcionalidad entre ambas circunstancias sólo se registra cuando el riesgo real es igual al riesgo percibido, pero esta situación es infrecuente en el ámbito de la salud pública, donde son habituales los casos de infravaloración (supuesto del tabaquismo) o, al contrario, los de hipervaloración (crisis de las dioxinas y, en cierta medida, la de la encefalopatía espongiforme bovina).

Algunos autores, como Adams (Londres, 1995), han desarrollado modelos que intentan explicar los cauces del comportamiento de los ciudadanos ante estas situaciones. Del autor citado es el modelo del "Termostato del Riesgo" que se recoge en la **fig. 1**. Según este modelo, el comportamiento de los individuos es el balance de las influencias derivadas de la plasmación de los riesgos potenciales (consecuencias negativas de un comportamiento) y de la plasmación de las recompensas derivadas de la

conducta (efectos positivos). Las primeras impulsan a abandonar un determinado comportamiento (fumar, comer carne de vaca, etc). Las segundas, en sentido contrario, propician que el individuo mantenga el hábito. No obstante, unas y otras no son igualmente percibidas por los individuos, ni lo son de una forma homogénea. Al contrario, tanto la percepción del riesgo como de los beneficios de la recompensa, pasan a través de filtros individuales, e incluso sociales, que distorsionan sus consecuencias.

Por qué razón, en materia de SA, no coinciden, con frecuencia, el riesgo percibido y el riesgo real es una materia de alto interés y sobre la que están trabajando muchos autores. Se da una creciente importancia a lo que ha dado en denominarse "Comunicación del Riesgo", tercera fase de las tres en las que actualmente se descompone el Análisis del Riesgo.



En 1.989, el U.S. National Research Council Committee On Risk Perception and Communication, definió la Comunicación del Riesgo como "*Un proceso interactivo de intercambio de información entre individuos, grupos e instituciones. Implica diversos mensajes, tanto sobre la naturaleza del riesgo como sobre otros aspectos que ponen de manifiesto preocupaciones, opiniones o reacciones frente al riesgo o frente a los planes legales e institucionales para gestionar el riesgo*". Pues bien, en relación con las situaciones de alarma relacionadas con crisis alimentarias, D. A. Powell, de la Universidad de Guelph, en Canada, asume que la comunicación del riesgo asume siempre estas cuatro defectuosas características:

1.- En las fases iniciales, la información es inexacta, contradictoria e incompleta.

2.- Se producen constantes cambios de los contenidos de la información.

3.- Se rompen los canales habituales de comunicación.

4.- Ambiente generalizado de confusión.

Sea porque se producen estas circunstancias en la fase de la Comunicación del riesgo, o sea porque los errores se han cometido durante las de Evaluación o Gestión, lo cierto es que las últimas crisis registradas en el ámbito europeo han adolecido de una especial falta de concordancia entre el riesgo real y el cómo éste se percibió por parte de la población. Sus consecuencias fueron devastadoras:

-pérdidas directas para los productores,

-pérdidas de competitividad en mercados internacionales,

-crisis institucionales, nacionales y comunitarias,

-pérdida de confianza de los consumidores,

-turbulencias caóticas en los mercados.

Ciertamente, también han tenido algunos efectos beneficiosos, como puede haber sido la reorganización interna de los servicios de la Comisión de la Unión Europea, con la creación de una Dirección General de Sanidad y Consumo (DGSANCO) que ha absorbido muchas competencias que anteriormente eran desempeñadas por unidades muy próximas a los intereses (legítimos) de los productores primarios. Igualmente, puede mencionarse como una consecuencia positiva la aprobación del Libro Blanco de Seguridad Alimentaria, así como el desarrollo de éste, especialmente por lo que se refiere a la creación de una Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, así como el proyecto de Reglamento Comunitario que en estos momentos está discutiéndose en Bruselas (Parlamento y Consejo) en el que, entre otras

novedades de enorme trascendencia, se encuentra la de la clara distribución de responsabilidades entre los operadores económicos y el principio de la trazabilidad. Ambas herramientas, trabajando conjuntamente, ayudaran a eliminar uno de los principales factores de riesgo para la seguridad alimentaria: el del anonimato de los productos, en cualquiera de sus fases de transformación.

En todo caso, y en referencia a lo que son sus objetivos, la SA está presentando en el entorno europeo las siguientes notas características:

-solidaria por sectores o ámbitos geográficos,
-subjetiva,
-altamente vulnerable,
-irreversibilidad,
-intransigencia (mito del riesgo cero),
-capacidad para introducirse en el debate político.

Pero señalábamos inicialmente que la SA no es sólo un doble objetivo sino también un sistema, entendiendo por tal un conjunto de recursos humanos y materiales que se aplican a la consecución de aquéllos objetivos y que comprometen a la Administración y a los operadores económicos, con la participación de mediadores sociales (medios de comunicación, asociaciones empresariales, asociaciones de consumidores). Hacerse una idea cabal de cual es la situación de la SA, desde este punto de vista, en un país determinado, implica repasar el estado en el que se encuentran los distintos factores de cada uno de estos elementos.

Por lo que se refiere a la Administración, deben analizarse los siguientes factores:

-el cuerpo normativo,
-la aptitud y actitud de los recursos de inspección y control,
-el referente científico,
-el esquema organizativo.

En el contexto europeo en el que se mueve España, la situación de estos factores merece un juicio razonablemente positivo, con la excepción del referente científico, no porque no existan numerosas individualidades, o grupos, con niveles de excelencia, sino porque no se ha asentado una organización concreta que permita su utilización en las fases de Evaluación del Riesgo, y aún en la de Comunicación del Riesgo. Seguramente, la creación de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria vendrá a resolver esta deficiencia.

Por lo que se refiere a los operadores económicos, acostumbramos a formar el juicio respecto de ellos, y en relación con el problema de la SA en función de cómo respondan a los elementos de la siguiente plantilla

---

Rasgos que caracterizan el compromiso de los operadores económicos con la SA

0.- No presuponer su existencia,

1.- Censada como objetivo estratégico de la empresa,

2.- Relevante integración en la escala jerárquica directiva,

3.- Solvencia técnica,

4.- Clarificación del régimen de responsabilidades,

5.- Integración longitudinal de la seguridad

From farm to fork/ De l'étable à la table

6.- Anticipación.

7.-Comunicación,

8.-Relaciones con la Administración.

Sometidos a un análisis con ese instrumento, la situación de los operadores económicos españoles y europeos, en relación con la SA, presenta las siguientes características:

-Niveles aceptables en el sector industrial y de distribución, con un paulatino incremento de empresas de excelencia en materia de seguridad.

-Compara bien, y en ocasiones con ventaja (registros/ HACCP/ marcas de calidad/ etc) en el panorama internacional.

-Necesidad de un mayor compromiso del sector primario (trazabilidad).

Bajo el influjo de los factores mencionados, tanto institucionales como privados, la SA en España se caracteriza por tres notas básicas:

1ª.- Siguen disminuyendo las enfermedades transmitidas por alimentos.

2ª.- Muy afectada por el contexto internacional, tanto desde el punto de vista de la comunicación del riesgo (BSE) como desde el de la evaluación del riesgo (OMG).

3ª.- Se mantiene en la opinión pública una situación expectante, sin que pueda calificarse como de desconfianza.

Por lo que se refiere al futuro, vendrá marcado por los siguientes factores:

-Las acciones derivadas del Libro Blanco, especialmente por lo que se refiere a la creación de la AESA, el régimen de responsabilidades y los principios de trazabilidad y transparencia.

-La paulatina aplicación de los acuerdos SPS (sanitarios y fitosanitarios) del GATT.

-La gestión de los nuevos riesgos difusos, de largos periodos de incubación (dioxinas y similares)

-Las valoraciones éticas.

-Los alimentos como promotores de salud (alimentos funcionales).

Hasta aquí hemos analizado la SA como un problema para la sociedad. Tratemos ahora de su carácter como oportunidad para profesionales e investigadores.

El V Programa Marco de I+D de la Unión Europea (1998-2002), dotado con 14.960 millones de euros, recoge entre sus acciones clave una referente a Alimentos, Nutrición y Salud, dotada con 290 millones de euros, y que abarca las tecnologías de fabricación; calidad y seguridad de los alimentos; detección de agentes infecciosos y tóxicos; dietética y nutrición; epidemiología, toxicología y salud pública.

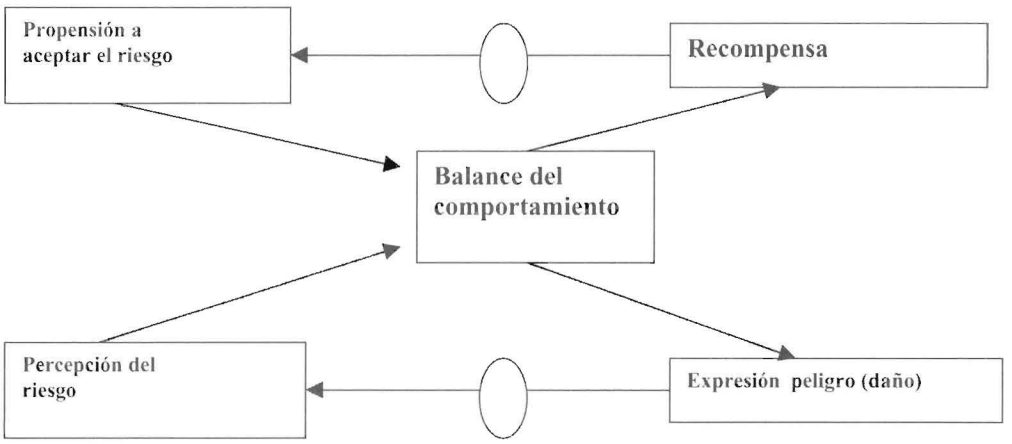
Por su parte, la recientemente publicada (BOE 2 de febrero) Orden de ayudas para algunos programas nacionales del Plan Nacional de Investigación Científica,

Desarrollo e Innovación Tecnológica 2000-2003, recoge una acción estratégica de investigación sobre seguridad alimentaria.

Independientemente de todo ello, no resulta aventurado predecir que, en el medio plazo, los desafíos más importantes, tanto desde el punto de vista de la capacitación profesional como desde el de la investigación, procederán de las siguientes áreas prioritarias:

-los métodos rápidos de diagnóstico,
-nuevas técnicas de conservación o higienización,
-alimentos funcionales,
-modelos predictivos,
-análisis de comportamientos sociales e individuales.

Fig. 1. Termostato del riesgo
("Risk", J. Adams. London, 1995)



Genética

INTERACCION SEXO-QTL EN EL CROMOSOMA 8 SOBRE CARACTERES DE CRECIMIENTO EN PORCINO

R. Quintanilla[1a], D. Milan[2], J.P. Bidanel[1]

[1] INRA, Station de Génétique Quantitative et Appliquée, Jouy-en-Josas (FRANCE).
[2] INRA, Laboratoire de Génétique Cellulaire, Castanet-Tolosan (FRANCE).
[a] Departamento de Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, Pamplona.

INTRODUCCIÓN

La presencia de un QTL en el SSC8 (*Sus Scrofa Chromosome 8*) ligado a la tasa de ovulación en porcino ha sido claramente puesta de manifiesto en varios trabajos (Rathje *et al.*, 1997; Rohrer *et al.*, 1999; Wilkie *et al.*, 1999). Asimismo, los resultados obtenidos por diversos autores sugieren la existencia de zonas del SSC8 que intervienen sobre otros caracteres en porcino: proporciones corporales y características de la canal (Andersson-Eklund *et al.*, 1998), musculación y estado de engrasamiento (Rohrer y Keele, 1998a,b; Bidanel *et al.*, 2001), y también crecimiento en distintos periodos (Casas-Carrillo *et al.*, 1997; Paszek *et al.*, 1999; Bidanel *et al.*, 2001), si bien en la mayoría de estos trabajos la presencia del QTL en SSC8 no fue significativa a nivel del conjunto del genoma. En todos estos trabajos se consideró un mismo efecto del QTL para ambos sexos, aunque Andersson-Eklund *et al.* (1998) analizaron la presencia de interacción sexo-QTL y no fue significativa. Por su parte, en el trabajo de Knott *et al.* (1998) la presencia de un QTL sobre la longitud del intestino en el SSC8 tan solo fue significativa cuando la interacción sexo-QTL fue considerada en el modelo.

El presente trabajo aborda la detección de QTLs en el SSC8 ligados a caracteres de crecimiento considerando la posible interacción entre el sexo y los efectos del QTL, trabajando sobre una población F_2 obtenida a partir del cruzamiento de machos Large White (LW) y hembras Meishan (Ms).

MATERIAL Y MÉTODOS

Población experimental, caracteres analizados y genotipado

El presente estudio se realiza sobre una población experimental F_2 LW×Ms, constituida por 1085 animales agrupados en 24 familias de hermanos completos. Estos animales F_2 se sometieron a un periodo de engorde entre las 10 y las 22 semanas de edad. De los distintos caracteres registrados en este periodo, en el presente trabajo se analizarán los pesos a distintas edades, así como la ganancia media diaria (ver tabla 1).

Los 1085 animales F_2, sus 30 progenitores F_1 y los 12 abuelos fundadores se genotiparon para un total de 123 marcadores microsatélites distribuidos a lo largo del genoma, ocho de los cuales se encuentran situados en el SSC8 (ver figura 1) objeto del presente estudio. El análisis de ligamiento se realizó utilizando la versión 2.4 del programa CriMap (Green *et al.*, 1990), transformando posteriormente las unidades de recombinación en distancias de Haldane.

Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron mediante la metodología descrita por Haley *et al.* (1994). Esta aproximación asume que sólo dos alelos del QTL están segregando en la población F_2; denotaremos Q el alelo de origen Ms y q el alelo de origen LW. Bajo esta asunción, las probabilidades de que un individuo F_2 tenga uno de los cuatro posibles genotipos para el QTL [p(QQ), p(Qq), p(qQ) y p(qq)] se calcularon, para cada cM del SSC8, en función de los genotipos para los marcadores flanqueantes (Haley *et al.*, 1994). Posteriormente, en cada cM del SSC8 y para todos los caracteres analizados, se ajustaron los siguientes modelos de regresión:

- Modelo base con el efecto de un QTL: $y_{ijk} = \mu + s_j + g_k + \beta cov_i + c_{ai}\, a + c_{di}\, d + e_{ijk}$ {1}
- Modelo con interacción sexo-QTL: $y_{ijk} = \mu + s_j + g_k + \beta cov_i + c_{ai}\, (a^*s_j) + c_{di}\, (d^*s_j) + e_{ijk}$ {2}

donde: y es el fenotipo del animal i; μ es la media global; s_j es el efecto fijo del sexo; g_k es el efecto fijo del grupo (familia); βcov_i es la regresión sobre la edad; a es el efecto aditivo del locus, y $c_{ai}=p_i(QQ)-p_i(qq)$; d es el efecto de dominancia del locus, y $c_{di}=p_i(Qq)+p_i(qQ)$.

Los contrastes realizados fueron: **1)** Modelo 1 *vs* Modelo sin QTL (F con 2 g.l. en el numerador); **2)** Modelo 2 *vs* Modelo sin QTL (F con 4 g.l. en el numerador); y **3)** Modelo 2 *vs* Modelo 1 con el mejor QTL, i.e. con máxima F (F con 2 g.l. en el numerador).

Los umbrales de significación para el contraste de estas hipótesis se obtuvieron a partir de técnicas de permutación de los datos (Churchill y Doerge, 1994), realizando 10000 permutaciones dentro de familias de hermanos y tomando la F máxima en cada permutación. Posteriormente el umbral de significación a nivel del genoma para el primer contraste (9.0 para $p_{genom}<0.05$) se obtuvo aplicando la corrección de Bonferroni, y el umbral para la F de 4 g.l. (6.1 para $p_{genom}<0.05$) se obtuvo de forma aproximada, tal y como describen Knott *et al.* (1998).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos para la presencia de un QTL sobre los caracteres de crecimiento en el SSC8 se muestran en las tablas 2 y 3. Tal y como se observa, cuando se ajustó el modelo 1 que consideraba el mismo efecto en los caracteres de ambos sexos (tabla 2), los resultados no fueron en ningún caso significativos a nivel de genoma, si bien los resultados fueron indicativos de la presencia de un QTL en el SSC8 para el peso al final del engorde (22 semanas) y el crecimiento durante la época de engorde. En ambos casos se obtuvo un modelo completamente aditivo, donde los individuos homocigotos para el alelo LW presentaban un incremento de P22 (-a=2.439 kg ±1.16) y de GMD durante el engorde (-a=21.601 gr ± 11.69). La posición más probable de este QTL sería entre los microsatélites SW905 y SWR1101. Para el resto de pesos y crecimientos analizados, la presencia de un QTL en el SSC8 no fue en ningún caso significativa. Estos resultados se corresponden parcialmente con los obtenidos por otros autores (Casas-Carrillo *et al.*, 1997; Paszek *et al.*, 1999), quienes también encuentran resultados indicativos de la presencia de un QTL en el SSC8 afectando al crecimiento a distintas edades, pero sin alcanzar en ningún caso el umbral de significación a nivel del genoma.

Cuando se consideraron distintos efectos del QTL en cada uno de los sexos (resultados en tabla 3), la presencia de un QTL en el SSC8 resultó significativa para todos los pesos del periodo de engorde, así como para el crecimiento. Asimismo el modelo que incluía la interacción sexo-QTL (modelo 2) proporcionaba un mejor ajuste de los datos que el modelo que no consideraba la interacción (modelo 1), si bien sólo para el carácter P22 este contraste fue altamente significativo. En todos estos caracteres se obtuvo un modelo completamente aditivo para los machos, con un efecto aditivo de aproximadamente el doble al obtenido cuando se consideraba el mismo efecto para ambos sexos. Los efectos tanto aditivos como dominantes sobre las hembras fueron despreciables. La posición más probable del QTL fue en todos los casos la misma, y muy próxima a la anteriormente obtenida en ambos sexos, i.e. en la parte proximal del SSC8, entre los microsatélites SW905 y SWR1101.

De este modo los resultados obtenidos parecen confirmar la existencia de un QTL en la parte proximal del SSC8 ligado a los caracteres de peso/crecimiento durante la época de engorde, pero con un efecto sexo-específico. Según estos resultados este QTL afecta exclusivamente al crecimiento de los machos, de un modo completamente aditivo y con efecto favorable del alelo LW; así, los machos homocigotos para el alelo LW pesan un 4.5% más a las 13 y 17 semanas y un 6.1% más a las 22 semanas, y tienen una ganancia media diaria 6.9% superior a la media de la población F_2. Por último apuntar que estos resultados ponen también de manifiesto la trascendencia de considerar la interacción sexo-QTL a la hora de abordar la detección de QTLs ligados a caracteres que se expresan en ambos sexos.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Caracteres analizados, media y desviación en la población F_2 LW x Ms.

		N	Media	D.E.
Peso corporal (kg)				
- 13 semanas	P13	1039	38.126	5.956
- 17 semanas	P17	1039	55.318	9.844
- 22 semanas	P22	1039	76.264	13.359
Ganancia media diaria (gr/día)	GMD	1039	621.297	146.283

Figura 1. Panel de marcadores en SSC8.

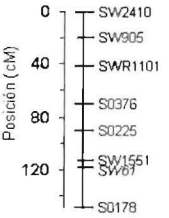


Tabla 2. Análisis de la presencia de un QTL en SSC8 para los distintos caracteres analizados: valor máximo del estadístico F y significación (a nivel de genoma), posición correspondiente en el cromosoma (cM) y efectos estimados aditivo (A) y dominante (D).

Carácter	F_{2gl} [a]	Posición	A (s.e.)	D (s.e.)
P13	5.031 n.s.	29	-0.861 (0.272)	0.095 (0.432)
P17	5.196 n.s.	33	-1.312 (0.408)	0.147 (0.645)
P22	8.779 n.s.+	31	-2.439 (0.593)	0.772 (0.945)
GMD	7.012 n.s.+	31	-21.601 (5.964)	9.163 (9.518)

[a] Modelo {1} *vs* Modelo sin QTL; n.s. no significativo; + indicativo a nivel nominal.

Tabla 3. Resultados del análisis de la presencia de un QTL en SSC8 considerando la interacción sexo-QTL: valor máximo del estadístico F_{4gl} (*vs* ningún QTL), valor de F_{2gl} (*vs* el mejor QTL sin interacción), posición correspondiente en el cromosoma (cM) y efectos estimados aditivo (A) y dominante (D) en cada sexo.

Carácter	F_{4gl} [a]	F_{2gl} [b]	Pos.	$A_{hembras}$ (s.e.)	A_{machos} (s.e.)	$D_{hembras}$ (s.e.)	D_{machos} (s.e.)
P13	6.120 *	7.153 +	27	-0.053 (0.377)	-1.722 (0.383)	-0.851 (0.589)	0.971 (0.600)
P17	6.167 *	7.074 +	27	-0.214 (0.570)	-2.454 (0.579)	-1.769 (0.892)	1.605 (0.908)
P22	9.155 ***	9.380 ++	27	-0.244 (0.821)	-4.706 (0.833)	-1.298 (1.283)	2.662 (1.306)
GMD	7.358 **	7.592 +	28	-0.965 (8.314)	-43.265 (8.455)	-7.028 (13.129)	24.407 (13.341)

[a] Modelo {2} *vs* Modelo sin QTL; [b] Modelo {2} *vs* Modelo {1};
* $p_{genom}<0.05$; ** $p_{genom}<0.01$; *** $p_{genom}<0.001$; + $p_{crom}<0.05$; ++ $p_{crom}<0.01$.

REFERENCIAS

Andersson-Eklund *et al.* 1998. *J Anim Sci* 76(3):694-700.
Bidanel *et al.* 2001. *Genet Sel Evol* (en prensa).
Casas-Carrillo et al. 1997. *Anim Genet* 28(2):88-93.
Churchill y Doerge. 1994. *Genetics* 138: 963-971.
Green *et al.* 1990. CRIMAP v.2.4, Washington University School of Medicine, St. Louis.
Haley *et al.* 1994. *Genetics* 136: 1195-1207.
Knott *et al.* 1998. *Genetics* 149(2):1069-1080.
Paszek *et al.* 1999. *Mamm Genome* 10(2):117-122.
Rathje *et al.* 1997. *J Anim Sci* 75(6):1486-1494.
Rohrer *et al.* 1999. *J Anim Sci* 77(6):1385-1391.
Rohrer y Keele. 1998a. *J Anim Sci* 76(9):2247-2254.
Rohrer y Keele. 1998b. *J Anim Sci* 76(9):2255-2262.
Wilkie *et al.* 1999. *Mamm Genome* 10(6):573-608.

AGRADECIMIENTOS

R. Quintanilla agradece a la Universidad Pública de Navarra la concesión de una "Ayuda a la Formación de Personal Docente" para la realización de una estancia de investigación en la *Station de Génétique Quantitative et Appliquée* del INRA.

ASIGNACIÓN DE LA VARIANZA GENÉTICA EXPLICADA POR MARCADORES PARA CARACTERES DE LANA EN OVEJAS MEDIANTE MAPEO POR SEGMENTOS

Ricardo Ponz Mir[1,2], Carole Moreno[1], Daniel Allain[1], Jean M. Elsen[1], Fréderic Lantier[3], Isabelle Lantier[3], Jean C. Brunel[4], Miguel Pérez-Enciso[1]

[1] Station d'Amélioration Génétique des Animaux, INRA, BP27, 31326 Castanet-Tolosan, Francia.

[2] Dirección permanente: Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular, Facultad de Veterinaria, C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España (e-mail: 406859@docto.unizar.es)

[3] Unité de Pathologie Infectieuse et Immunologie, INRA , 37380 Nouzilly, Francia.

[4] Domaine expérimental Bourges-La Sapinière, 18390 Osmoy, Francia.

INTRODUCCIÓN

Un primer paso a la hora de identificar los genes con efecto cuantitativo (QTL´s) en el genoma es realizar un barrido con microsatélites que cubran todo el genoma. Ésta es, sin embargo, una estrategia lenta y onerosa. Un método alternativo consiste en tipificar un número más limitado de marcadores y estimar la fracción de la varianza genética total explicada por el conjunto de ellos. Esto nos permite identificar los cromosomas más relevantes para continuar con un genotipado más fino. El mapeo por segmentos (Pérez-Enciso y Varona, 2000) se adapta bien a este fin ya que, dividiendo el genoma en una serie de segmentos, nos permite analizar la parte de la varianza genética total explicada por cada uno de de los segmentos, así como la del resto del genoma. Hemos utilizado esta estrategia en un diseño experimental de búsqueda de QTL´s para características de la lana en ovino (Allain et al., 1998).

MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 1829 animales de la raza sintética INRA401 (Romanov x Berichon du Cher) (Ricordeau et al. 1992) La población se componía de 30 machos y 690 hembras, que produjeron 1109 corderos (694 machos y 415 hembras). Se extrajo ADN de muestras sanguíneas y se genotiparon los marcadores por PCR, analizándose 40 microsatélites repartidos en 20 cromosomas. Los microsatélites estudiados y la distancia en cM entre ellos (estimada mediante CRIMAP) fue: **chr 1**, INRA049; **chr 2**, OARFCB20 -15- ISLTS30 -74- ARO28 -6- TG13 -6- TG23; **chr 3**, BMC1009 -32- OARVH34; **chr 4**, McM218 -46- MAF050 -39- OARHH35 -30- McM73 -17- OARHH64; **chr 5**, OARAE129; **chr 6**, OARAE101; **chr 7**, ILST005; **chr 8**, BM2504; **chr 9**, ILSTS0011 -28- ILSTS008 -15- McM042; **chr 11**, OARFBC193 -11- MAP2C; **chr 12**, HUJ625; **chr 13**, IL2RA -40- ILSTS059; **chr 15**, BM0848 -21- TGLA75 -49- MAF065; **chr 16**, BM1225 -58- MAF214; **chr 17**, BM8125 -38- OARFCB048; **chr 18**, ILSTS052; **chr 20**, OLADRB -18- BM1258 -56- OARHH56; **chr 21**, BMC1206; **chr 25**, IDVGA8 -15- IDVGA088; **chr 26**, CSSM43. Se tomaron las muestras de lana a los corderos a peso fijo de 32 Kg para las hembras y 38 Kg para los machos (alrededor de 3 meses de edad). Se midió la longitud de la mecha (**SL**) y, con un analizador óptico de fibras, se determinaron la media (**MFD**) y el coeficiente de variación (**CVFD**) del diámetro de la fibra.

El modelo linear utilizado para el análisis fue:

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\bullet\ \beta + \mathbf{a}_0 + \sum_{s=1}^{nseg} \mathbf{a}_s + \mathbf{e} = \mathbf{X}\,\beta + \sum_{s=0}^{nseg} \mathbf{a}_s + \mathbf{e}\,, \qquad [1]$$

donde **y** es el vector que contiene los fenotipos, **X** es la matriz de incidencia de los efectos fijos β en las observaciones, $\mathbf{a}_s$ contiene los efectos genéticos asociados con el segmento s, y **e** es el vector de los residuos. Para cada cromosoma, los marcadores más extremos delimitaron el segmento, si sólo había un marcador por cromosoma, definimos una región de 20 cM alrededor del marcador. Por convención utilizamos $s = 0$ para denotar el valor genético infinitesimal. Los efectos fijos incluidos en β varían de acuerdo con el carácter, y son aquellos que se encontraron significativos en análisis previos (Moreno, 1999). Los efectos fueron sexo, serie (3 niveles) y edad (4 niveles) para la longitud de mecha; sexo, serie y modo de nacimiento-lactancia (5 niveles) para diámetro de fibra medio y serie para el coeficiente de variación del diámetro medio.

Definimos la heredabilidad del segmento como $h_s^2 = \sigma_s^2 / (\sum_{s=0}^{nseg} \sigma_s^2 + \sigma_e^2) = \sigma_s^2 / \sigma_y^2$. La heredabilidad clásica se estima incluyendo solo $\mathbf{a}_0$ en el modelo, y entonces $h_0^2 = \sigma_0^2 / (\sigma_0^2 + \sigma_e^2)$. Utilizaremos la notación Modelo(*s*, *s'*) para especificar un modelo de la ecuación [1] que incluye los segmentos *s*, *s'*, ej. Modelo(0, 3) significa que se fijó el efecto genético infinitesimal más el efecto del segmento del cromosoma 3. Los parámetros σ_0^2 y σ_s^2, la varianza del segmento del cromosoma *s*, fueron estimados por máxima verosimilitud como se describe en Pérez-Enciso y Varona (2000).

El cociente de verosimilitudes (LRT) del Modelo(0, *s*) versus el Modelo(0) es una evidencia de cuándo el cromosoma *s* explica una parte significativa de la variación genética.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura muestra que sólo 5 de los 20 cromosomas tipados (chrs 3, 4, 6, 7 y 25) influyen significativamente ($P < 0.05$) en alguno de los caracteres estudiados, El carácter SL está afectado por 3 cromosomas (3,7 y 25), MFD por 2 cromosomas (6 y 25) y CVFD por 3 cromosomas (4,7 y 25). La Tabla muestra los resultados de los cromosomas que resultaron significativos.

Asimismo, también realizamos un análisis conjunto de todos los segmentos significativos más a_0 para cada uno de los caracteres (Ponz et al., sin publicar). En este análisis se vio que toda la variación genética para SL está explicada por los crs. 3, 7 y 25 , esto es, el Modelo(0, 3, 7, 25) no fue significativamente mejor que el (3, 7, 25) para SL. Es interesante constatar que uno de los grupos de genes de la queratina (KRT2.10 and KRT2.13) está situado en el cr. 3, en la zona de máxima significación.

Los dos cromosomas significativos, 6 y 25, explicaron sólo el 40% del total de la varianza genética de MFD, el resto se debe a genes en grupos de ligamiento sin tipar o que se encuentran alejados de los marcadores tipados. Para el coeficiente de variación del diámetro medio, el resultado es intermedio entre los otros dos caracteres; los tres segmentos 4, 7 y 25, explican el 50% de la varianza genética.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subencionado por AIM INRA GRAM y "Génome et fonctions". R. Ponz agradece el apoyo económico de la Diputación General de Aragón (proyecto P66/97) y de la Caja de Ahorros de la Inmaculada (CONSI+D y CAI, "Programa Europeo de Estancias de Investigación"

REFERENCIAS

Allain D. (1998). Proc 6th World Cong Genet Appl Livest Prod. Vol 24: 51-54.

Pérez-Enciso M, Varona L (2000) Genetics 155, 391- 405.

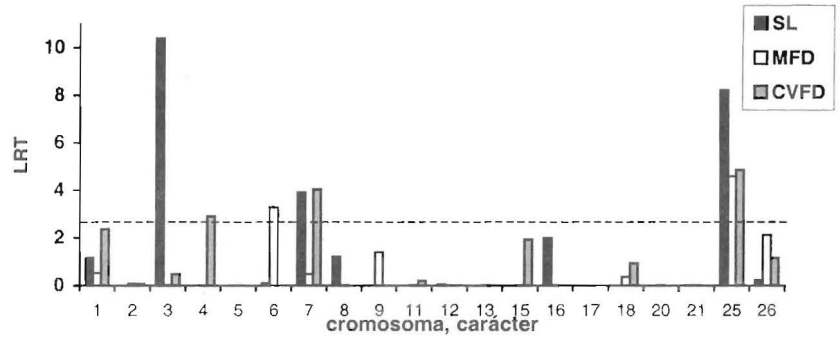
Ricordeau G. (1992). INRA Prod Anim, no 'hors série' "Elements de Génétique Quantitative et application aux populations animales" 255-262.

Moreno C (1999) Recherche de gènes à effet quantitatif liés à des marqueurs moléculaires dans la souche ovine INRA401. Diplôme d´Études Approfondies.

Tabla. *Resultados de cromosomas individuales. Cr, cromosoma; Cr = i, indica que en el modelo se incluyó a_0 más el cromosoma i; Cr = 0, resultado incluyendo sólo a_0.*

Carácter	Cr	LRT (<P)	h^2_0	h^2_s
SL	0	-	0.36 ± 0.06	-
	3	10.4 ($<5\cdot10^{-4}$)	0.16 ± 0.09	0.20 ± 0.06
	7	3.9 (<0.03)	0.21 ± 0.10	0.15 ± 0.07
	25	8.2 ($<10^{-3}$)	0.23 ± 0.08	0.13 ± 0.05
MFD	0	-	0.55 ± 0.08	-
	6	3.3 (<0.03)	0.47 ± 0.10	0.11 ± 0.06
	25	4.6 (<0.02)	0.44 ± 0.10	0.11 ± 0.05
CVFD	0	-	0.75 ± 0.07	-
	4	2.9 (<0.05)	0.64 ± 0.10	0.12 ± 0.06
	7	4.0 (<0.02)	0.59 ± 0.10	0.16 ± 0.08
	25	4.9 (<0.02)	0.66 ± 0.09	0.09 ± 0.04

Figura: *Cociente de verosimilitudes entre el Model(0) y el Modelo(0,cr). La línea corresponde al nivel aproximado de significación del 5%.*



ANÁLISIS DEL CROMOSOMA 6 PARA REGIONES GENÓMICAS CON INFLUENCIA SOBRE CARACTERES DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA DE FRISONA *

Álvarez[1] L, Arranz[1] J.J., Hernández[2] D., Dávila[2], B. y San Primitivo[1], F.
[1]Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León
[2]Dpto. Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Madrid.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de los microsatélites como marcadores con alto grado de polimorfismo y distribuidos a lo largo del genoma supuso, un importante paso en la elaboración de los mapas de ligamiento en las especies domésticas. La existencia de estos mapas de ligamiento ha permitido una exploración de los genomas de los animales con el fin de dilucidar la base molecular de los caracteres con importancia económica en producción animal. Estos estudios han permitido la identificación de genes responsables de algunos de estos caracteres, los denominados genes de efecto mayor (Grobet et al., 1997; Milan et al., 2000). No obstante, la mayoría de los caracteres de importancia económica, son el resultado de la acción de múltiples genes (denominados QTLs), con un efecto fenotípico más pequeño y, en consecuencia, más difíciles de detectar. En el ganado vacuno se han identificado diferentes regiones genómicas con influencia sobre los fenotipos relacionados con la producción de leche. El cromosoma 6 es en el que mayor número de asociaciones positivas se han detectado. La existencia de resultados convergentes en una región cromosómica, confirma la influencia de dicha zona sobre los caracteres estudiados y además, puede ayudar a la localización del gen o genes responsables mediante los estudios de identidad por descendencia (Riquet et al., 1999). El objetivo del presente trabajo es la búsqueda de relaciones entre regiones genómicas del cromosoma 6 y caracteres de producción de leche en familias de ganado vacuno de raza Frisona explotadas en España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han analizado 4 familias compuestas por 42, 22, 35 y 31 hijos, siguiendo un diseño nietas (Weller et al., 1990).

Genotipos

Los 9 microsatélites localizados en el cromosoma 6, se amplificaron en 3 diferentes reacciones: multiplex 6-FAM (BM4311, BM 415, BM4528); multiplex NED (BM143, BM1329, ILSTS93) y multiplex HEX (TGLA37, BM4621, ILSTS97). La PCR se realizó en un volumen final de 10 µl y 50 ng de ADN extraído a partir de semen. La amplificación de los 9 marcadores se llevó a cabo en tres reacciones distintas de PCR 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.

Fenotipos

Se han empleado los valores genéticos de los toros analizados, para los caracteres producción de leche (MY), producción de proteína (PY), producción de grasa (FY), porcentaje de proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP), estimados a partir de las lactaciones de sus hijas. Los valores genéticos han sido suministrados por CONAFE y han sido estimados mediante el BLUP modelo animal con medidas repetidas (CONAFE, 2000).

* Trabajo financiado por los proyectos 1FD97-0225 y SC00-039

Análisis estadísticos

Para detectar la posible existencia de QTLs se ha seguido el método de Knott et al. (1996), que realiza una regresión de los fenotipos sobre los genotipos en cada región cromosómica. Para la localización de los marcadores en el mapa se ha utilizado la distancia estimada en los mapas bovinos publicados (Kappes et al., 1997; Barendse et al, 1997). No se elaboró un mapa específico para la población analizada debido a la baja información exhibida por alguno de los marcadores en las familias analizadas. Esta escasez de datos en alguno de los marcadores produciría una diferente estimación de la distancia entre microsatélites o en el orden de los mismos. No obstante, se ha utilizado el programa CRIMAP (Green et al., 1990) con objeto de detectar posibles errores en el genotipado.

Los niveles de significación se han calculado por permutaciones para cada carácter (nivel cromosómico) y realizando una corrección de Bonferroni suponiendo la existencia de 3 caracteres independiente (Spelman et al., 1996)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presenta el nivel de información obtenido en el mapa de ligamiento, así como los perfiles de significación para los cinco caracteres a lo largo del cromosoma (114 cM, Haldane). La información extraída en el cromosoma ha sido muy diferente en función de la informatividad de los marcadores. Así, en la región entre los cM 12 y 45 se observa una zona con información muy baja (<50%) debido a la gran distancia entre los marcadores ILSTS93 y BM1329 y a la escasa información exhibida por este último que sólo ha sido informativo en una de las familias (FAM3) constituida por 35 individuos.

Por lo que se refiere a la asociación con los caracteres de producción de leche, en la figura se puede observar como, en la región centromérica del cromosoma, el carácter producción de leche alcanza unos niveles de significación que superan el 5% corregido por permutaciones y por el método de Bonferroni para 3 caracteres independientes. En el resto de las variables, sólo la producción de proteína alcanza niveles que superan el 10% de significación.

En cuanto al efecto detectado, afecta a los caracteres de forma diferente. Así, parece ser mayor en la producción de leche, próximo ala significación estadística en la producción de proteína y mucho menor en la producción de grasa. En la tabla 1 se detallan los efectos detectados en las 4 familias analizadas.

En este cromosoma otros autores han obtenido resultados positivos, tanto en la raza Frisona como en otras de aptitud lechera. Estos estudios pueden dividirse en aquellos que localizan el efecto en la región centromérica (Georges et al., 1995; Spelman et al., 1996; Zhang et al., 1998) y los que detectan el efecto en la parte mas cercana al clúster de las caseínas (Khün et al., 1999; Velmala et al., 1999; Wiener et al., 2000). La detección de varios tipos de efectos podría deberse a la posible existencia de varias regiones, dentro del mismo cromosoma, con influencia sobre la producción lechera. En la población analizada en nuestro estudio el fragmento que segrega parece estar situado únicamente en la zona centrométrica, no habiéndose observado ningún tipo de efecto en la segunda región. Lamentablemente, ésta es la región con un menor nivel de información extraída por el mapa utilizado, debido a la ausencia de microsatélites en dicha zona. En cualquier caso, nuestros resultados son concordantes con los obtenidos en otras relaciones de la misma raza y permiten

concluir que un análisis con mayor densidad de marcadores en esta región podria detectar un fragmento IBD portador del QTL responsable del efecto.

Figura 1. Perfil de los valores del log(1/ P) para el análisis de todas las familias para los cinco caracteres analizados: producción de leche (MY), producción de proteína (PY), producción de grasa (FY), porcentaje de proteína (PP) y porcentaje de grasa (FP). En línea negrita se representa el contenido de información del mapa de ligamiento.

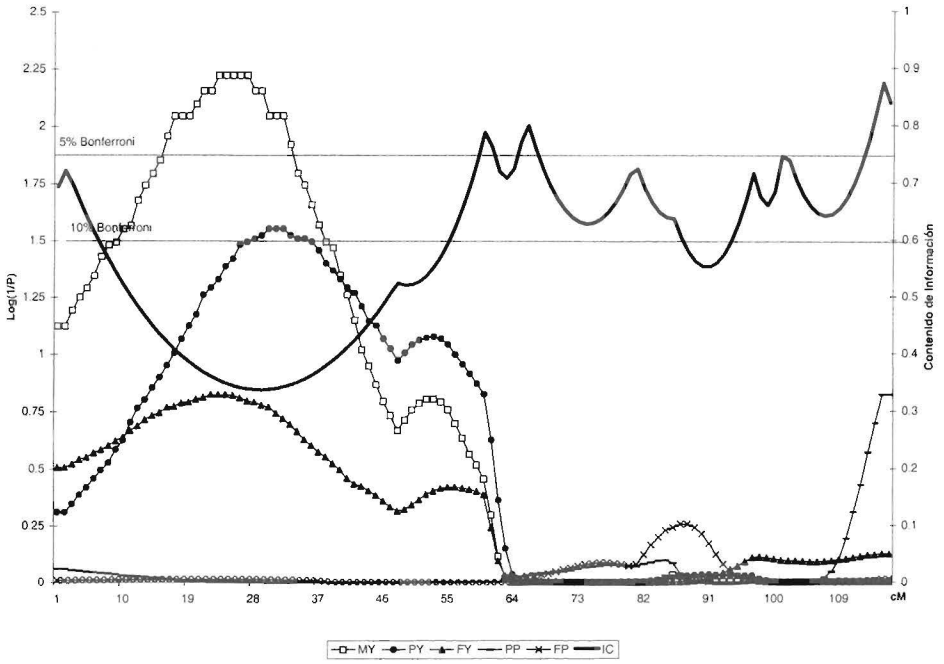


Tabla1. Magnitud del efecto del detectado en el cromosoma 6 (cM 24)

	MY	PY	FY	PP	FP
Fam1	283,1	7,3	13,7	-0,014	-0,041
Fam2	762,3	24,1	19,7	-0,005	-0,096
Fam3	357,108	7,4	6,7	-0,052	0,076
Fam4	120,919	3,7	0,749	0,000	0,042

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Barendese, W. et al., (1997). *Mammalian Genome*, **8**: 21-28
CONAFE, (2000). Valoración genética de vacas.
Georges, M., et al., (1995). *Genetics,* **139**: 907-920.
Green, P., Falls, K. (1990). Washintong Unervisity School of Medicine. St. Louis. M.O.
Grobet, L., Royo Martin, L.J., Poncelet, et al. (1997). *Nature Genetics*, **17:** 71-74.
Kappes, S.M. et al., (1997). *Genome Research*, **7**: 235-249.
Khun, C.H., Freyer, G., Weikard, R. etal., (1999). *Animal Genetics*, **30**: 333-340
Knott S.A., Elsen J.M., Haley C.S. (1996). *Theor. Appl. Genet*, **93:** 71-80.
Milan D., Jeon J.T., Looft C. ,et al. (2000). *Science*, **288**: 1248-1251.
Riquet, J., Coppieters, W., Cambisano, N. (1999). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , **96**: 9252-9257
Spelman, R., Coppieters, W., Karim, L., et al., (1996). *Genetics*, **144:** 1799-1808.
Velmala, R.J., Vilkki, H.J., Elo, H.T. et al., (1999). *Animal Genetics*, **30**: 136-143
Weller J.I., Kashi Y., Soller M., (1990). *J. Dairy Sci.*, **73:** 2525-25
Wiener, P., Maclean, J., Williams, J.L. Woolliams, J.A. (2000) Animal Genetics, 31: 389-395.
Zhang, Q., Boichard, D., Hoeschele, I. et al., (1998). *Genetics*, **149**: 1959-1973.

ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE UN GEN MAYOR CON EFECTO SOBRE LA CAPACIDAD UTERINA EN CONEJAS OVARIECTOMIZADAS UNILATERALMENTE

M.J. Argente[1], J.A. Ortega[2], C.S. Haley[3], P.M. Visscher[4], A. Blasco[2]
[1]Universidad Miguel Hernández. Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Carretera de Beniel Km 3,2. Orihuela 03312. Alicante. España
[2]Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Ciencia Animal. P.O. Box 22012. Valencia 46071. España
[3]Roslin Institute, Roslin, Midlothian, EH25 9PS. Edinburgh. UK
[4]Institute of Cell, Animal and Population Biology, Ashworth Laboratories, West Mains Road, University of Edinburgh, EH9 3JT. Edinburgh. UK

INTRODUCCION

La selección por capacidad uterina se propuso como un método alternativo a la selección directa por tamaño de camada (Blasco et al., 1994). En un experimento de selección divergente por capacidad uterina en conejo, Ortega et al. (2001) encontraron una fuerte respuesta asimétrica en las cuatro primeras generaciones de selección para capacidad uterina y número de embriones implantados, sugiriendo la posible existencia de un gen mayor. Se han detectado genes mayores o QTLs que afectan al tamaño de camada y a sus componentes, la tasa de ovulación y la capacidad uterina (Rohrer et al., 1999, en cerdo; Messer et al., 1999, en ratón). El objetivo de este trabajo es analizar en las líneas del experimento de selección divergente por capacidad uterina la posible presencia de un gen mayor relacionado con la capacidad uterina en conejo.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron los datos de un experimento de selección divergente por capacidad uterina realizado durante diez generaciones. La capacidad uterina se estimó como el tamaño de camada en hembras ovariectomizadas unilateralmente (ULO). Cada línea divergente (ULO+, línea de alta capacidad; ULO-, línea de baja capacidad uterina) tuvo aproximadamente 40 hembras y 12 machos por generación. Los animales procedieron de la 12ª generación de una línea sintética seleccionada por número de gazapos destetados (línea V). A todas las hembras se les extirpó su ovario izquierdo antes de alcanzar su pubertad, y se les practicó una laparoscopía a los 12 días de su segunda gestación para contar la tasa de ovulación y el número de embriones implantados. Se registró el número de nacidos totales en los cuatro primeros partos (CU), la tasa de ovulación a los 12 días de la 2ª gestación (TO, estimada como el número de cuerpos lúteos) y el número de embriones implantados a los 12 días de la 2ª gestación (EI, estimado como el número de puntos de implantación).

Se realizó un análisis de segregación compleja en el que se utilizó un modelo mixto con los efectos no genéticos de año-estación (30 niveles) y de lactación (3 niveles), y los efectos genéticos de los poligenes y de un gen mayor. Para el carácter CU se añadió al modelo el efecto permanente de hembra. Se asumió que el gen mayor era bialélico, y que podía tener un efecto aditivo (a) y un

efecto dominante (d). Se utilizó el paquete estadístico MaGGic (Janss et al., 1995). La inferencia estadística se realizó a través de la estimación de las distribuciones marginales posteriores vía Gibbs sampler. Se asumieron distribuciones a priori planas para los efectos no genéticos y los efectos del locus del gen mayor entre $(-\infty; +\infty)$, entre $[0; +\infty)$ para los componentes de varianza, y entre [0;1] para las frecuencias alélicas. Se generaron dos cadenas de una longitud de 500.000 muestras. Se eliminaron las primeras 300.000, y el intervalo de muestreo se realizó cada 25 iteraciones. El procedimiento satisfizo las recomendaciones de Raftery y Lewis (1992), salvo para la cadena de TO. Se comprobó la convergencia de las cadenas con el test de Gelman y Rubin (1992).

RESULTADOS Y DISCUSION

La figura 1 muestra la existencia de varianza poligénica en capacidad uterina (CU), y no se detecta ningún gen mayor segregando. La CU se mide como el tamaño de camada en los cuatro primeros partos, y el MaGGic sólo asume la posible presencia de un gen mayor bialélico. No detectar la presencia de un gen mayor para CU, a pesar de la fuerte respuesta asimetría encontrada por Ortega et al. (2001), puede deberse a la existencia de uno o varios genes mayores pero de efecto moderado, o a que la magnitud del efecto del gen mayor sea diferente en cada parto. Analizando los cuatro partos por separado, sólo se detectó la presencia de un gen mayor en los dos primeros (estos resultados podrían estar sesgados). También en porcino, Janss et al. (1997) encontraron un gen mayor en el primer parto, pero no hallaron ningún gen mayor en el segundo parto. La mala convergencia de las cadenas no permite identificar ningún gen mayor para tasa de ovulación (TO) (figura 1). El carácter embriones implantados (EI) muestra la presencia de un gen mayor (con una probabilidad del 90%), junto con la presencia de varianza poligénica (figura 1). El alelo desfavorable para EI se encuentra en una frecuencia de 0.30(0.07). Este gen tiene un elevado efecto aditivo (3.14(0.32) gazapos) y parece ser completamente dominante (a=d). La proporción de varianza debida al gen mayor es elevada, 0.15(0.08) considerando sólo la varianza aditiva del gen y 0.39(0.10) considerando la varianza aditiva y dominante del gen mayor (tabla 1). Se repitieron los mismos análisis en cada una de las líneas por separado. Los resultados fueron consistentes con los encontrados en el trabajo de Ortega et al. (2001) y los presentados en este trabajo.

Las líneas de este experimento procedían de una población previamente seleccionada por tamaño de camada (TC) durante 12 generaciones. En esta población se podría haber fijado o estar en una alta frecuencia el gen favorable para TC o CU, pues la CU parece estar altamente correlacionada con el TC (Argente et al., 2000). La selección del alelo favorable tendría una escasa respuesta, mientras que la selección del alelo desfavorable daría lugar a una elevada respuesta en las primeras generaciones de selección. Los resultados de nuestro trabajo sugieren que podría haber un gen mayor de gran efecto para EI segregando en nuestra población. Este sería responsable de la fuerte respuesta

asimétrica encontrada por Ortega et al. (2001) para el carácter EI, carácter relacionado con las diferencias observadas entre las líneas ULO+ y ULO- en CU.

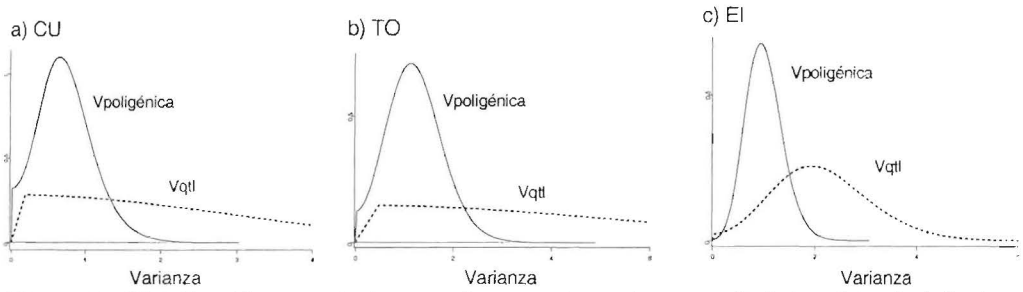


Figura 1. Distribución marginal posterior para la varianza poligénica (Vpoligénica) y la varianza del gen mayor (Vqtl) para capacidad uterina (CU), tasa de ovulación (TO) y embriones implantados (EI).

Tabla 1. Media y desviación estándar (DE) de la densidad marginal posterior para la capacidad uterina (UC), tasa de ovulación (TO) y el número de embriones implantados (EI).

	h^{2*} (DE)	h_{qtl}^2 (DE)	h_{qtl}^{2*} (DE)
CU	0.11(0.05)	0.08(0.10)	0.23(0.12)
TO	0.22(0.09)	0.12(0.13)	0.22(0.15)
EI	0.19(0.06)	0.15(0.08)	0.39(0.10)

h^{2*}: heredabilidad (Vpoligénica/Vtotal). h_{qtl}^2: heredabilidad del gen mayor (Va/Vtotal; con Va= varianza aditiva debida al gen mayor). h_{qtl}^{2*}: heredabilidad del gen mayor (Va+Vd/Vtotal; con Va= varianza aditiva debida al gen mayor y Vd= varianza dominante debida al gen mayor).

REFERENCIAS

Argente, M.J., Santacreu, M.A., Climent, A., Blasco, A. 2000. 7th World Rabbit Congress. Vol A:339-345.

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

Gelman, A., Rubin, D.B. 1992. Statistical Science. 7:456-472.

Janss, L.L.G., Thompson, R., Van Arendonk, J.A.M. 1995. Theor. Appl. Genet. 91: 1137-1147.

Janss, L.L.G., Johan, A. M., Van Arendonk, J.A.M., Brascamp, E.W.P. 1997. J. Anim. Sci. 75: 2864-2876.

Messer, L., Mousel, M., Nielsen, M., Pomp, D. 1999. Plant & Animal Genome VII conference. 340.

Ortega, J.A., Santacreu, M.A., Argente, M.J., Blasco, A. 2001. AIDA. Vol. Extra 21(1).

Raftery, E.A., Lewis, S. 1992. Oxford University Press, Oxford. Pp 763-773.

Rohrer, G.A., Ford, J.J., Wise, T.H., Vallet, J.L., Christenson, R.K. 1999. J. Anim. Sci. 77:1385-1391.

INFLUENCIA DEL GENOTIPO DE LA ß-LACTOGLOBULINA OVINA SOBRE CARACTERES CUALITATIVOS Y RENDIMIENTO QUESERO INDIVIDUAL EN LA RAZA CHURRA[1]

Gutiérrez Gil, B., Arranz, J.J., Othmane M.H., De la Fuente L.F. y San Primitivo, F.
Dpto. Producción Animal I, Facultad de Veterinaria, Universidad de León

INTRODUCCIÓN

Desde la identificación de polimorfismo en las proteínas de la leche, se han realizado una gran cantidad de estudios, con el objetivo de buscar relaciones entre sus diferentes formas alélicas y la capacidad productiva o la composición de la leche. Tanto en el ganado vacuno como en el caprino, se han puesto de manifiesto asociaciones entre determinados alelos o haplotipos de diferentes proteínas lácteas y caracteres de producción, principalmente los relacionados con la composición proteica y grasa (FitzGerald, 1997; Trujillo et al., 1998).

En el ganado ovino existe menor información sobre el tema, aunque en los últimos años se han realizado diferentes estudios sobre la influencia de las variantes de las proteínas lácteas, en las propiedades cualitativas y tecnológicas de la leche en diversas razas (Recio et al., 1997; Pirisi et al., 1998, Amigo et al., 2000; Giaccone et al., 2000). Como resultado de estos análisis, los genes que hasta el momento han mostrado una mayor influencia sobre los diferentes caracteres cualitativos han sido la ß-caseína y la ß-lactoglobulina (LGB), aunque en este último caso los resultados no son muy concluyentes.

El objetivo del presente estudio, realizado sobre una población ovina de raza Churra, es la determinación de la influencia de los diferentes genotipos del locus LGB (AA, AB y BB) sobre los caracteres: porcentaje de proteína, porcentaje de grasa, cantidad de caseína, proteína del lactosuero y rendimiento quesero individual estimado en laboratorio. Este trabajo se enmarca en un proyecto más amplio, cuyo objetivo es la búsqueda de genes con influencia sobre la producción lechera en el ganado ovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

La determinación del genotipo se ha realizado mediante PCR-RFLPs, utilizando la técnica de Schlee et al. (1992). El ADN se ha extraído a partir de muestras sanguíneas de un total de 418 animales de raza Churra, pertenecientes a 8 explotaciones del núcleo de selección. El ADN se amplificó mediante PCR y, una vez amplificado, fue digerido con el enzima de restricción *Rsa*I.

Como datos productivos se han utilizado un total de 2.633 controles realizados sobre las 418 ovejas de genotipo conocido. Los porcentajes de grasa y proteína se han determinado en el CENSYRA de León, utilizando el sistema Combifoss® (Foss Electric, Hillerod, Dinamarca). Las cantidades de caseína y proteína del lactosuero han sido determinadas por el método de espectrometría infra-rojo "con transformada de Fourrier", mediante un equipo AEGYS MI 200® (AÑADID, Trapees, Francia). El rendimiento quesero individual ha sido estimado en el laboratorio con el método descrito por Othmane et al. (1995).

Los datos se analizaron con el siguiente modelo lineal mixto utilizando el procedimiento MIXED de SAS.

[1] Trabajo realizado dentro del proyecto AGF99-0191 financiado por la CICYT

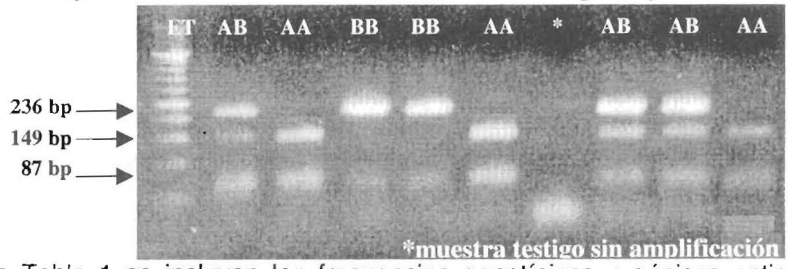
$$Y_{ijklmno} = \mu + HTD_i + MES_j + NP_k + EDAD_l + TP_m + LGB_n + OVE_m + \varepsilon_{ijklmn}$$

Donde Y es el valor de cada uno de los caracteres de calidad de la leche el día de control de la oveja p, μ es la media de todas las mediciones de ese carácter, como efectos fijos se han considerado: HTD como efecto del rebaño-día de control, MES es la fase de lactación en meses, NP el número de parto, EDAD es la edad al parto, TP el tipo de parto, LGB el genotipo para el gen ß-lactoglobulina y finalmente, OVE indica el efecto aleatorio de cada lactación individual, e incluye los efectos del ambiente permanente asociado con cada animal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La identificación genotípica se ha realizado siguiendo el patrón de los fragmentos de restricción obtenidos a partir de la digestión del fragmento amplificado con *Rsa*I, de forma que los animales homocigóticos LGB^{BB} y LGB^{AA} y los heterocigóticos posean 1, 2 y 3 fragmentos, respectivamente (figura 1).

Figura 1. Diferenciación electroforética de los genotipos de la LGB



En la Tabla 1 se incluyen las frecuencias genotípicas y génicas estimadas en la población de raza Churra para este locus. Es de destacar la alta frecuencia obtenida para el alelo B, mucho más elevada que la estimada en otras razas españolas analizadas hasta la fecha, en las que la frecuencia de este alelo oscila entre 0,33 en las razas Manchega y Segureña y 0,53 en la raza Lacha. La población analizada en el presente estudio está compuesta por hijas de un número limitado de machos de inseminación, por lo que se trata de animales emparentados. De todas formas, el gran tamaño de la muestra analizada hace pensar que las frecuencias estimadas no serán muy diferentes de las reales.

Tabla1. Distribución de los animales por genotipo y frecuencias génicas del locus LGB en raza Churra

Genotipo			Frecuencias Génicas	
AA	**AB**	**BB**	**A**	**B**
44	170	204	0,31	0,69

Por lo que se refiere al efecto del genotipo de la ß-lactoglobulina sobre los caracteres de calidad y rendimiento quesero, en la tabla 2 se incluyen, para cada uno de los tres posibles genotipos, las medias con sus errores estándar, obtenidos en los 5 caracteres analizados. El único carácter en el que se han observado diferencias significativas entre los 3 genotipos, ha sido el rendimiento quesero individual. Los animales homocigotos para el alelo A presentan un mayor rendimiento quesero que los animales heretocigóticos u homocigóticos portadores del alelo B. La cantidad de proteína del lactosuero es ligeramente menor en el genotipo AA, siendo igual en los otros dos genotipos. En los caracteres de calidad

restantes, se observan valores más altos, aunque con diferencias no significativas, en los animales LGB^{AA} que en el resto de los genotipos.

Tabla 2. Medias (±error estándar) para los distintos caracteres de producción láctea en ovejas portadoras de diferentes genotipos de la ß-lactoglobulina. Superíndices distintos indican diferencias significativas (P<0,05).

	Genotipo ß-lactoglobulina		
	AA	**AB**	**BB**
Porcentaje de proteína	5,91±0,08	5,88±0,05	5,86±0,05
Porcentaje de grasa	7,16±0,18	6,97±0,12	6,98±0,11
Rendimiento quesero (%)	$26,15^{a}$±0,40	$25,28^{b}$±0,27	$25,42^{b}$±0,27
Caseína	4,71±0,07	4,68±0,04	4,66±0,04
Proteína de lactosuero	1,17±0,01	1,18±0,01	1,18±0,01

Los resultados experimentales obtenidos con poblaciones de ganado ovino, en relación con la influencia del genotipo de la ß-lactoglobulina sobre caracteres de producción lechera, son muy variables, de forma que no es posible obtener conclusiones definitivas. Existen diferencias importantes entre los diversos estudios, relacionadas con el número de animales utilizados (escaso en la mayoría de ellos), la existencia de diferencias entre las distintas razas, el uso de medidas fenotípicas brutas o corregidas y la diferente metodología estadística empleada para estimar las asociaciones, entre otras. A pesar de ello, existe un importante grupo de estudios en los que se detecta una mayor cantidad de sólidos totales en los animales homocigotos LGB^{AA}, que sin duda haría aumentar su rendimiento quesero (Pirisi et al., 1998; Amigo et al., 2000). Nuestros resultados parecen apoyar esta conclusión; sin embargo, para obtener conclusiones definitivas, es necesario plantear un estudio basado en un diseño hija, que permita comprobar en los machos heterocigóticos, la existencia de diferencias cualitativas entre su progenie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amigo, L., Recio, I & Ramos, M. (2000). Genetic polymorphism of ovine milk proteins: its influence on technological properties of milk – a review. Int. Dairy J., 10: 135-139.

FitzGerald, R. (1997). Exploitation of casein variants. pp 153-172. En Milk Composition, Production and Biotechnology. Welch et al. (Ed.). CAB International. Wallingford (UK).

Giaccone, P., Di Stasio, L., Macciota, N.P.P., Portolano, B., Todaro, M. & Cappio-Borlano, A. (2000). Effect of β-lactoglobulin polymorphism on milk-related traits of dairy ewes analysed by a repeated measures design. J. Dairy Res., 67: 443-448.

Othmane, M.H., Fuertes, J.A. & San primitivo, F. (1995). Estimación indirecta del rendimiento quesero individual en el ganado ovino. ITEA, Vol. Extra 16 (2): 741-743.

Pirisi, A., Fraghi, A., Piredda, G. & Leone, P. (1998). Influence of sheep AA, AB and BB β-lactoglobulin genotypes on milk composition and cheese yield. Poc. 6th International symposium on machine milking of small ruminants. Athens. 553-555.

Recio, I., Fernández Fournier, A., Martín-Álvarez P.J. & Ramos, M. (1997). β-lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheesemaking properties and milk composition. Lait, 77: 259-265.

Schlee P. & Rottmann, O. (1992). Sheep ß-lactoglobulin: Determination of allelles A and B by PCR and RFLP analysis using plucked hair as source of DNA. pp 243-246. En Genetic conservation of domestic livestock. Alderson & Bodo (Ed.). CAB International. Wallingford (UK).

Trujillo, A.J., Jordana, J., Guamis, B., Serradilla, J. & Amills, M. (1998). Revisión: El polimorfismo del gen de la caseína α_{s1} caprina y su efecto sobre la producción, la composicición y las propiedades tecnológicas de la leche y sobre la fabricación y la maduración del queso. Food Science and Technology International, 4: 231-237.

ANALISIS DE QTLs EN CARACTERES LONGITUDINALES.

L. Varona, L. Gómez-Raya, W. Rauw, J. L. Noguera.
Area de Producció Animal. Centre UdL-IRTA.
Av/ Rovira Roure 177. 25198. LLEIDA.

INTRODUCCIÓN

Los caracteres expresados a lo largo del tiempo, como el crecimiento, la lactación o el consumo, están cobrando interés en los últimos años. Los procedimientos para su análisis se basan o bien en un modelo jerárquico de funciones de producción (Varona et al., 1997, 1998, Blasco y Varona, 1999, Toro et al., 1999, Rekaya et al., 2000), o en la utilización de modelos de regresión aleatoria (Jamrozik et al., 1997; Misztal et al., 2000). Por otra parte, el desarrollo de las técnicas de genética molecular ha permitido disponer de un mayor número de marcadores moleculares que se han utilizado para detectar genes de expresión cuantitativa (QTLs) en las distintas especies de interés zootécnico (Riquet et al., 1999; Rothschild, 2000). El objetivo de este trabajo es describir un procedimiento para la detección de QTL con efecto en caracteres longitudinales en el contexto del análisis jerárquico de funciones de producción. El procedimiento se comprobó mediante simulación.

SIMULACIÓN

Se han simulado datos de crecimiento procedentes de 400 individuos de una población F2, constituida por el cruce de dos líneas homocigotas tanto para el QTL (QQ *vs.* qq) como para dos marcadores flanqueantes (SS *vs.* ss y MM *vs.* mm). La fracción de recombinación entre los marcadores y el QTL fueron del 10%. Por cada individuo se han obtenido 5 registros de peso a los 80, 90, 100, 110 y 120 días de edad. Estos datos se simularon asumiendo una función lineal de crecimiento a partir de la siguiente expresión:

$$y_{ij} = a_i + b_i x_{ij} + r_{ij}$$

donde y_{ij} es el registro j del individuo i, a_i es el peso a 100 días de edad del individuos i, b_i es la velocidad de crecimiento del individuo i, x_{ij} es del día de control de la pesada j del individuo i, y r_{ij} es el residuo asociado, que se obtuvo de una distribución normal con media 0 y varianza 1.

Los parámetros de la función lineal de crecimiento de cada individuos se obtuvieron a partir de las siguientes expresiones:

$$a_i = \mu(a) + 1(G = QQ)ad(a) + 1(G = Qq)d(a) - 1(G = qq)ad(a) + e(a)_i$$
$$b_i = \mu(b) + 1(G = QQ)ad(b) + 1(G = Qq)d(b) - 1(G = qq)ad(b) + e(b)_i$$

Donde $\mu(a)$=100, $ad(a)$=0, $d(a)$=0, $\mu(b)$=0.6, $ad(b)$=-0.02, $d(b)$=-0.02. Las medias poblacionales del peso a los 100 dias y la velocidad de crecimiento son $\mu(a)$ y $\mu(b)$, $ad(a)$ y $ad(b)$ son los efectos aditivos, $d(a)$ y $d(b)$ son los efectos dominantes, respectivamente, y $e(a)$ y $e(b)$ son los residuos que se extrajeron de distribuciones normales univariantes con media cero y varianzas 25 y 9 x 10^{-4} respectivamente.

METODOLOGÍA

Se ha realizado un análisis bayesiano jerárquico a partir de la distribución conjunta de datos y parámetros. La verosimilitud de los datos de la función de producción fue:

$$f(\mathbf{y} \mid \mathbf{a}, \mathbf{b}, \sigma_r^2) \propto \prod_{i=1}^{nan} \prod_{j=1}^{ni} \frac{1}{\sigma_r} \exp \frac{-\left(y_{ij} - a_i - b_i x_{ij}\right)^2}{2\sigma_r^2}$$

Donde *nan* es el número de individuos con datos y n_i es el número de datos del individuo i.

Las distribuciones a priori de los parámetros de la función de producción fueron:

$$f(\mathbf{a} \mid \mu(a), ad(a), d(a), \sigma_e^2(a))$$
$$\propto \prod_{i=1}^{nan} \frac{1}{\sigma_e(a)} \exp \frac{-\left(a_i - \mu(a) - pr(QQ)ad(a) - pr(Qq)d(a) + pr(qq)ad(a)\right)^2}{2\sigma_e^2(a)}$$

$$f(\mathbf{b} \mid \mu(b), ad(b), d(b), \sigma_e^2(b))$$
$$\propto \prod_{i=1}^{nan} \frac{1}{\sigma_e(b)} \exp \frac{-\left(b_i - \mu(b) - pr(QQ)ad(b) - pr(Qq)d(b) + pr(qq)ad(b)\right)^2}{2\sigma_e^2(b)}$$

donde $\mu(a)$ y $\mu(b)$ son las medias poblacionales, $pr(QQ)$, $pr(Qq)$ y $pr(qq)$ son las probabilidades de poseer el genotipo QQ, Qq o qq condicionado a los marcadores, las distancias entre éstos y la posición del genoma considerada. Finalmente, $\sigma^2_e(a)$ y $\sigma^2_e(b)$ son las varianzas residuales para ambos parámetros.

Las distribuciones a priori de los componentes de varianza y los efectos aditivo y dominante fueron consideradas planas. Por lo tanto la distribución conjunta de datos y parámetros es:

$$f(\mathbf{a}, \mathbf{b}, \sigma_r^2, \mu(a), ad(a), d(a), \sigma_e^2(a), \mu(a), ad(a), d(a), \sigma_e^2(a) \mid \mathbf{y}) \propto$$
$$f(\mathbf{y} \mid \mathbf{a}, \mathbf{b}, \sigma_r^2) f(\mathbf{a} \mid \mu(a), ad(a), d(a), \sigma_e^2(a)) f(\mathbf{b} \mid \mu(b), ad(b), d(b), \sigma_e^2(b))$$
$$f(\sigma_r^2) f(\mu(a)) f(ad(a)), f(d(a)) f(\sigma_e^2(a)) f(\mu(b)) f(ad(b)), f(d(b)) f(\sigma_e^2(b))$$

El análisis se ha realizado utilizando Muestro de Gibbs (Geman y Geman, 1984; Gelfand y Smith, 1990) combinado con Data Augmentation (Tanner y Wong, 1987). Se utilizó una cadena única de 110.000 iteraciones descartando las 10.000 primeras.

RESULTADOS

El procedimiento se aplicó a los datos simulados, obteniendo los resultados presentados en la figura 1, que, como se puede observar, son coherentes con los parámetros de simulación. Las distribuciones posteriores de los efectos aditivos y dominantes para peso incluyen al 0 en sus intervalos de mayor densidad posterior (HPD) al 95%. Por el contrario, para la velocidad de crecimiento la probabilidad posterior de ser mayor que 0, tanto para el efecto aditivo como para el dominante, fue prácticamente nula. Se ha presentado un caso extremadamente simple para comprobar la capacidad del procedimiento para recuperar los parámetros simulados. Pese a todo, es susceptible de ser adaptado a situaciones más realistas en varias vertientes:

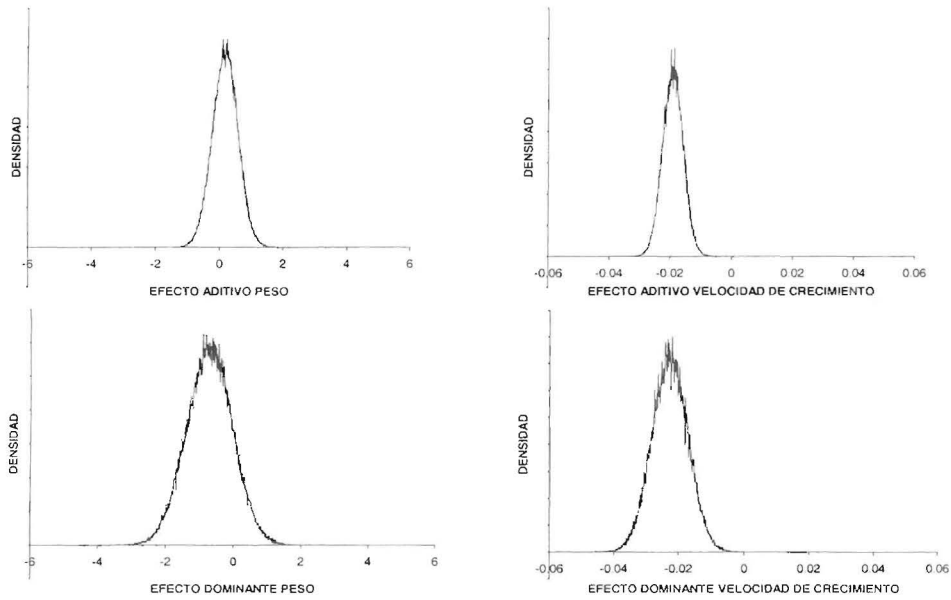
a) Se puede modificar la verosimilitud para introducir una función de crecimiento que describa más adecuadamente el crecimiento de los individuos (Gomperz, Von Bertalanffy, etc).

b) Se pueden modelizar los residuos mediante una función que dependa de la edad del individuo, y, además, se pueden introducir parámetros de autocorrelación entre residuos.

c) Las recombinaciones pueden ser consideradas como variables estocásticas, en lugar de asumir como conocidas las probabilidades condicionales de las configuraciones genéticas. En diseños sencillos, como el simulado, el resultado será equivalente, pero esta modificación hará factible el análisis de poblaciones más complejas.

d) Es posible incluir efectos atribuibles al efecto genético poligénico y al QTL en las distribuciones a priori de los parámetros de las funciones de crecimiento, permitiendo el análisis de poblaciones abiertas en el contexto de un modelo de componentes de varianza.

Figura 1. Distribuciones posteriores marginales de efectos aditivos y dominantes.



REFERENCIAS

Blasco A., Varona L. 1999. *ITEA*. 95:131-142.

Gelfand A., Smith A. F. M. 1990. *J.A.S.A.* 85:398-409.

Geman S., Geman D. 1984. *IEEE Trans. Pattn. Anal. Mach. Intell.* 6:721-741.

Jamrokzik J., Schaeffer L.R. 1997. *J. Dairy Sci.* 80:762-770.

Mignon-Grasteau S., Piles M., Varona L., de Rochambeau H., Poivey J.P., Blasco A., Beaumont C. *J. Anim. Sci.* 2515-2524.

Misztal I., Strabel T., Jamrozik J., Mantysaari E.A., Meuwissen T.H.E. 2000. *J. Dairy Sci.* 83:1125-1134.

Rekaya R., Carabaño M.J., Toro M.A. 2000. *J. Dairy Sci.* 2691-2701.

Riquet J., Coppieters W., Cambisano N., Arranz J.J., Berzi P., Davis S.K., Grisart B., Farnir F., Karim L., Mni M., Simon P., Taylor J. F., Vanmasshoven P., Wagenaar D., Womanck J. E., Georges M. 1999. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 84:2363-2367.

Rothschild, M. 2000. *ITEA* (en prensa).

Tanner M. A., Wong, W. H. 1987. *J.A.S.A.* 82:528-550.

Varona L., Moreno C., García-Cortes L.A., Altarriba J. 1997. *Livest. Prod. Sci.* 47:201-209

Varona L., Moreno C., García-Cortes L.A., Altarriba J. 1998. *J. Dairy Sci.* 1469-1478.

ESTIMACION DE PARAMETROS GENETICOS PARA CARACTERES DE TIPO EN LA RAZA ASTURIANA DE LOS VALLES

Gutiérrez, J.P.[1], Alvarez, I[2]., Goyache, F[2].

[1]Departamento de Producción Animal de la U.C.M., Facultad de Veterinaria, Madrid; [2]CENSYRA-SERIDA, C/ Camino de los Claveles 604, Gijón (Asturias); E-mail: felixgg@princast.es

INTRODUCCION

La Asociación de Criadores de Raza Asturiana de los Valles (ASEAVA) impulsó la puesta en marcha del proyecto CICYT-FEDER 1FD97-1633, que prevé entre sus objetivos la determinación de parámetros genéticos de caracteres morfológicos, productivos y reproductivos al objeto de conocer las relaciones genéticas entre los caracteres que determinan el valor económico de los animales de esa raza. El objetivo de la presente comunicación es realizar una primera estimación de los parámetros genéticos de los caracteres de tipo incluidos en el sistema de calificación morfológica que se aplica en la raza Asturiana de los Valles.

MATERIAL Y METODOS

Se han analizado 6.522 registros de calificaciones morfológicas de animales de genealogía conocida de raza Asturiana de los Valles obtenidos entre los años 1993 y 1998, de los que 654 eran machos y 5.868 hembras reproductoras. La información de pedigrí incluía 2.616 animales adicionales por lo que el número de animales utilizados en el análisis fue de 9.138.

El sistema de calificación utilizado comprende 11 caracteres morfológicos calificados de 5 a 10 y una calificación final (CF) obtenida mediante ponderación de los caracteres morfológicos mediante un coeficiente multiplicador. Los caracteres morfológicos son: Aspecto de conjunto (As), Desarrollo (De), Cabeza (Ca), Cuello, pecho, cruz y espalda (Cu), Tórax y Vientre (To), Dorso y lomos (Dl), Grupa y nacimiento de cola (Gr), Muslos y nalgas (Mn), y Patas y aplomos (Pa). En hembras se califica la Forma y calidad de la ubre, (Ub) y en machos el Desarrollo testicular (Dt). Los caracteres y la sistemática de calificación se describen en Goyache et al. (2001a; 2001b).

Los parámetros genéticos se estimaron mediante un procedimiento REML multivariado aplicado a un modelo mixto que incluía el efecto genético aditivo del animal como variable aleatoria ($u \sim N(0, A\sigma^2_u)$). Como resultado de análisis previos (Goyache et al., 2001b), se incluyeron en el modelo ajustado los siguientes efectos fijos: la explotación donde se encontraba el animal, el efecto del calificador/año/estación de calificación (con dos estaciones: de enero a junio, y de julio a diciembre), el sexo/estado de lactación del animal (con tres niveles: machos, hembras paridas entre 0 y 4 meses, y hembras paridas hacía 5 o más meses) y la edad del animal. (en años). Las estimaciones se realizaron mediante el programa VCE4 Version 4.1 escrito por E. Groeneveld.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las parámetros genéticos de los caracteres de tipo analizados se muestran en la Tabla 1. Las heredabilidades calculadas fueron de moderadas a bajas, desde 0,04 de Gr a 0,26 de As. La mayor heredabilidad se encuentran en el carácter que determina, a modo de índice, el ajuste del animal al estándar racial (As). Los caracteres que determinan la talla de los animales (De, To) presentan una heredabilidad de 0,20 y una alta correlación genética de 0,75. Los caracteres sexuales muestran heredabilidades medias para Dt y bajas para Ub, con una correlación genética positiva y alta (0,78) entre ambos, de forma que ambos caracteres estarían controlados sustancialmente por los mismos genes. Las menores heredabilidades se encuentran en los caracteres que evalúan las líneas de aplomos (Pa) dorso-lumbar (Do), así como Gr. Los resultados obtenidos se encuentran en el sentido esperable (Brotherston, 1994) pero con valores menores de los obtenidos en ganado lechero con metodologías de calificación lineal. Las heredabilidades calculadas a partir de registros obtenidos con metodologías no lineales tienden a ser menores que las obtenidas a partir de metodologías lineales que son capaces de recoger en mayor medida la variabilidad biológica existente en las poblaciones (Thompson et al, 1981). Por otra parte, algunos de los caracteres que presentan menores heredabilidades son demasiado complejos y de difícil interpretación (Gr) o experimentan una gran influencia ambiental; Pa es un índice de varios caracteres simples (manos y patas en vistas laterales y frontales) que presentan heredabilidades moderadas y correlaciones genéticas negativas. Los registros de Ub se han obtenido en cualquier momento de la lactación del animal. CF muestra una heredabilidad moderada (0,21) y correlaciones genéticas iguales o superiores a 0,65 con todos los caracteres excepto con los sexuales, pareciendo comportarse como un buen índice.

Dt y Ud presentan, en general, correlaciones genéticas del mismo signo y magnitud con el resto de los caracteres, siendo éstas de signo negativo con los caracteres lo que podría llamarse "calidad" del animal (As, Ca, Dl y Pa). Dt presenta correlaciones genética positivas y moderadas con los caracteres que evalúan el tamaño del animal (De, To). El perímetro escrotal es un carácter altamente correlacionado con caracteres de crecimiento y reproductivos (Knights et al., 1984; Keeton et al., 1996) por lo que Dt podría ser susceptible de ser utilizado como indicador indirecto de caracteres de importancia económica en programas de evaluación de sementales. As muestra correlaciones genéticas entre moderadas y altas con los otros caracteres que evalúan el ajuste al estándar racial (Ca, Dl y Pa). Mn presenta correlaciones genéticas entre moderadas y altas con todos los caracteres excepto los sexuales.

Los parámetros genéticos de los caracteres de tipo analizados en esta comunicación presentan unos valores que pueden justificar la utilización de las calificaciones morfológicas en el programa de selección de sementales de la raza Asturiana de los Valles. La metodología utilizada para obtener los datos puede no ser adecuada para recoger de forma totalmente correcta las relaciones biológicas entre los caracteres de tipo y otros productivos o reproductivos de interés económico para las explotaciones ganaderas (Goyache et al, 1999; 2000). Sin embargo, antes de decidir su sustitución por un sistema de calificación debería procederse a estimar las correlaciones genéticas de estos caracteres con otros caracteres productivos o reproductivos de interés económico. Los resultados provisionales expuestos en la

presente comunicación pueden justificar la eliminación de cierto número de caracteres de tipo de la lista de candidatos a ser utilizados como indicadores indirectos de caracteres de importancia económica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BROTHERSTON, S. 1994. Genetic and phenotipic correlations between linear type traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *Anim Prod*, **59**: 183-187.

GOYACHE, F., VILLA, A., BARO, J.A. AND ALONSO, L. 1999. Aplicación de un sistema de calificación morfológica continua en la raza Asturiana de los Valles. *FEAGAS*, 16: 8-17.

GOYACHE F., DEL COZ, J.J., QUEVEDO, J.R., LÓPEZ, S., ALONSO, J., RANILLA, J., LUCES, O., ALVAREZ, I., BAHAMONDE, A., 2000. Using artificial intelligence algorithms to design and implement a morphological assessment system in beef cattle. Anim Sci, aceptado para publicación.

GOYACHE, F., GUTIÉRREZ, J.P., ALVAREZ, I. 2001a. Análisis de componentes principales sobre los caracteres de tipo en la raza Asturiana de los Valles. IX Jornadas de la AIDA sobre Producción Animal, Zaragoza, 25-27 de abril.

GOYACHE, F., GUTIÉRREZ, J.P., ALVAREZ, I. 2001b. Efectos ambientales de influencia en la calificación morfológica de reproductoras de raza Asturiana de los Valles. IX Jornadas de la AIDA sobre Producción Animal, Zaragoza, 25-27 de abril.

KEETON, L.L., GREEN, R.D., GOLDEN, B.L., ANDERSON, K.J., 1996. Estimation of variance components and prediction of breeding values for scrotal circumference and weaning weight in Limousin cattle. J Anim Sci, 74:31-36.

KNIGHTS, S. A., BAKER, R. L.; GIANOLA, D. and GIBB, J. B. 1984. Estimates of heritabilities and of genetic and phenotypic correlations among growth and reproductive traits in yearling Angus bulls. *J Anim Sci*, 58: 887-895.

THOMPSON, J.R.; FREEMAN, A.E.; WILSON, D.J.; CHAPIN, C.A.; BERGER P.J., KUCK, A. 1981. Evaluation of linear type linear program in Holsteins. *J Dairy Sci*, **64**: 1610-1617.

Tabla 1: Heredabilidad (en la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) estimados para caracteres de tipo en la raza Asturiana de los Valles

Carácter	As	De	Ca	Cu	To	Dl	Gr	Mn	Pa	Dt	Ub	CF
As	0,26	0,20	0,42	0,48	0,38	0,50	0,31	0,42	0,87	-0,38	-0,39	0,65
De		0,21	0,16	0,36	0,75	0,31	0,75	0,47	0,04	0,51	0,32	0,70
Ca			0,18	0,67	0,41	0,54	0,73	0,51	0,64	0,06	0,12	0,66
Cu				0,16	0,56	0,89	0,69	0,86	0,72	-0,14	-0,24	0,83
To					0,21	0,55	0,67	0,74	0,38	0,37	-0,03	0,84
Dl						0,05	0,61	0,63	0,75	-0,37	-0,56	0,73
Gr							0,04	0,56	0,38	0,34	0,26	0,83
Mn								0,20	0,55	0,15	-0,03	0,85
Pa									0,05	-0,55	-0,52	0,68
Dt										0,20	0,78	0,14
Ub											0,06	-0,03
CF												0,21

PARÁMETROS GENÉTICOS Y RESPUESTAS A DIFERENTES ÍNDICES DE SELECCIÓN DE CARACTERES DE MORFOLOGÍA MAMARIA EN LA RAZA LATXA.

A. Legarra, E. Ugarte, I. Beltrán de Heredia, J. Arranz.
NEIKER. Granja Modelo de Arkaute. Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

Debido al interés que tiene la morfología mamaria en ovino lechero (Labussière, 1988), durante los años 1997-1999 se llevó a cabo una experiencia de calificación de ubres en rebaños comerciales de las razas Churra, Latxa y Manchega (De la Fuente et al., 1998) de acuerdo al método descrito por De la Fuente et al. en 1996.

En el presente trabajo se presentan para la raza Latxa las estimas de parámetros genéticos obtenidos para dichos caracteres y respuestas correlacionadas que mostrarían en función de diferentes índices de selección estudiados, según los parámetros del esquema de selección actualmente existente. Algunos resultados parciales fueron presentados por Legarra et al. (1999).

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre los años 1997-1999 se realizaron calificaciones de morfología mamaria en 11 rebaños de la raza Latxa cada 2 meses, calificándose todos los animales presentes en ese momento en el ordeño, de tal forma que se obtuvieron medidas repetidas para cada animal, tanto dentro de una misma lactación como entre lactaciones sucesivas. Los caracteres considerados fueron profundidad de ubre, inserción de ubre, posición de pezón y tamaño de pezón. Todos los caracteres se evaluaron en una escala lineal entre 1 y 9 (De la Fuente et al., 1996). El fichero de datos incluyó 8332 calificaciones y 4516 datos de lactación tipo, para 2914 ovejas. Las características fenotípicas de los caracteres considerados se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características de los caracteres considerados

	Profundidad de ubre	Inserción de ubre	Posición de pezón	Tamaño de pezón	Lactación tipo (l)
Media	6.30	5.20	4.19	4.94	155
Desv. est.	1.23	1.34	1.60	1.28	59.39

Los parámetros genéticos se estimaron por REML con el programa VCE 4.2.5 por el método de los gradientes analíticos (Neumaier y Groeneveld, 1998). El modelo utilizado para los caracteres morfológicos incluyó los efectos fijos: rebaño-año, mes de lactación, edad al parto-número de parto, PEDC= Producción estimada (por interpolación de los datos de control lechero) en el día de control (introducida como covariable); y los efectos aleatorios: efecto aditivo, efecto permanente entre lactaciones sucesivas, efecto permanente intralactación. La covariable PEDC se incluyó para eliminar el efecto del llenado de la ubre por la leche. El modelo utilizado para el carácter lactación tipo fue el utilizado en la valoración genética (Ugarte et al., 1996) incluyendo los efectos rebaño-año, rebaño-mes de parto-edad-número de parto, número de corderos nacidos vivos, intervalo parto-primer control lechero, efecto aditivo y efecto permanente.

Se calculó el progreso genético en 10 años, probando diferentes índices de selección según la fórmula citada por Dekkers y Gibson (1998, [5]). La intensidad de

selección fue estimada a partir de las tendencias genéticas estimadas en la valoración genética de Latxa Cara Negra de 2000, resultando ser de 0.18, correspondiente a 2.98 l/año.

Hay que indicar que el establecimiento de pesos económicos en estos caracteres presenta serias dificultades, debido a que su repercusión sobre el mérito económico global se produciría a través de la disminución del tiempo necesario por ordeño y del riesgo de mamitis, así como a un incremento en la longevidad. Todos estos aspectos necesitan ser estimados en posteriores investigaciones. Sin embargo, para tener una idea de las posibilidades, se analizaron diferentes índices de selección, de acuerdo a los siguientes objetivos:

(a) Maximización de la producción de leche, sin establecer presión de selección en los caracteres de morfología ("Leche").

(b) Restricción de los caracteres morfológicos en sus niveles actuales maximizando la respuesta en leche ("Mantener ubres")

(c) Restricción o (d) mejora de 0.25 puntos en el carácter posición de pezón en su nivel actual, maximizando la respuesta en leche ("Mantener posición de pezón" o "posición de pezón y leche", respectivamente). Se ha elegido este carácter porque está directamente relacionado con la facilidad de ordeño y presenta una correlación genética negativa con lactación tipo, así como una media fenotípica alejada del óptimo.

Para el cálculo de los pesos en estos índices restringidos, se utilizaron las ecuaciones citadas por Brascamp (1984) y simplificadas en el texto de Weller (1994, p.128).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estimas de parámetros genéticos se presentan en los cuadros 2 y 3. Se observa que los caracteres de ubre tienen heredabilidades medias y los de pezón medias-altas. Las correlaciones con el carácter lactación tipo son positivas para los caracteres de ubre y negativas para los caracteres de pezón. Estos resultados son similares a los presentados por Fernández et al. (1997) para la raza Churra, excepto en que las correlaciones que estimaron para los caracteres profundidad de ubre e inserción de ubre con lactación tipo fueron bastante diferentes (0.82 y –0.02) lo que cambiaría la interpretación de las respuestas correlacionadas a selección por lactación tipo. Hay que indicar que las estimas de componentes de varianza (no así la heredabilidad) para lactación tipo están claramente sobrestimadas, al haber trabajado con un grupo de rebaños más productivos que el conjunto de la raza. Realizando un análisis REML univariante del carácter lactación tipo con todos los datos de la raza, el componente de varianza para el efecto aditivo es de 253 l^2. Por ello, para el cálculo de las respuestas genéticas, se han modificado las columnas y filas de ese carácter en la matriz de (co)varianzas aditivas, manteniendo los ratios estimados.

En el cuadro 4 se presentan los resultados a 10 años de los diferentes índices de selección. Una selección exclusiva para cantidad de leche (a) implicaría mayores ubres con pezones menores y peor colocados. Sin embargo, el mantenimiento de todos los caracteres de morfología mamaria en sus niveles actuales (b) sería a costa de una fuerte pérdida en el progreso genético para leche, (de 30 a 13 litros) lo cual no es deseable. En ese sentido, en función de los resultados obtenidos sería tolerable una ligera presión de selección, bien sea para mantener (c) o para mejorar (d) algún carácter. Consideramos que esta aproximación empírica es adecuada para conocer que estos caracteres son susceptibles de mejora por selección, pero somos conscientes de que la aproximación óptima sería a través del cálculo de pesos económicos.

Cuadro 2. Componentes de varianza de caracteres de morfología mamaria y lactación tipo

Componente de varianza	Profundidad de ubre	Inserción de ubre	Posición de pezón	Tamaño de pezón	Lactación tipo (l^2)
Aditivo	0.190	0.206	0.804	0.516	415
Permanente	0.284	0.184	0.562	0.370	609
Permanente intralactación	0.106	0.085	0.224	0.037	
Error	0.384	0.609	0.749	0.571	987

Cuadro 3: Heredabilidades (en la diagonal) y correlaciones genéticas (sobre la diagonal) y fenotípicas (bajo la diagonal) de caracteres de morfología mamaria y lactación tipo

	Profundidad de ubre	Inserción de ubre	Posición de pezón	Tamaño de pezón	Lactación tipo (l^2)
Profundidad de ubre	**0.197**	-0.334	-0.261	-0.051	0.421
Inserción de ubre	0.034	**0.190**	0.325	0.007	0.393
Posición de pezón	-0.215	0.220	**0.344**	0.605	-0.227
Tamaño de pezón	0.093	0.016	0.383	**0.346**	-0.291
Lactación tipo (l^2)	0.331	0.149	-0.136	-0.030	**0.206**

Cuadro 4. Progresos genéticos en 10 años con diferentes índices de selección

Objetivo	Profundidad de ubre	Inserción de ubre	Posición de pezón	Tamaño de pezón	Lactación tipo (l)
(a) Leche	0.34	0.33	-0.38	-0.39	29.79
(b) Mantener ubres	0	0	0	0	12.57
(c) Mantener posición de pezón	0.30	0.40	0	-0.21	28.71
(d) Posición de pezón y leche	0.27	0.44	0.25	-0.09	27.42

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha podido ser realizado gracias al proyecto AGF96-1408-CO3-02 financiado por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, y a una beca concedida por el INIA a A. Legarra.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brascamp, E.W., 1984 Selection indices with constraints. Anim. Breed. Abs. 52, 645-654.

De la Fuente, L. F., Fernández, G., San Primitivo, F., 1996. A linear evaluation system for udder traits of dairy ewes. Livest. Prod. Sci. 45, 171-178.

De la Fuente, L. F., Pérez-Guzmán, M. D., Othmane, M. H., Arranz, J., 1998. Amélioration génétique de la morphologie de la mamelle dans les races Churra, Latxa et Manchega. Proceedings of the 6th International Symposium on the Milking of Small Ruminants. Wagening Pers, pp. 369-374.

Dekkers, J. C. M. and Wilson, J. P. 1998. Applying breeding objectives to dairy cattle improvement. J. Dairy Sci 81(2), 19-35.

Fernández, G., Baró, J. A., De la Fuente, L. F., San Primitivo, F., 1997. Genetic parameters for linear udder traits of dairy ewes. J. Dairy Sci. 80, 601-605.

Labussière, J., 1988. Review of physiological and anatomical factors influencing the milking ability of ewes and the organization of milking. Livest. Prod. Sci., 18, 253-274.

Legarra, A., Arranz, J., Beltrán de Heredia, I., Ugarte, E., 1999. Sistema de calificación de morfología mamaria en ovejas de raza Latxa: Resultados preliminares. ITEA Vol. Extra 20, 345-347.

Neumaier, A. and Groeneveld, E. 1998. Restricted Maximum Likelihood estimation of covariances in sparse linear models. Gen. Sel. Evol. 30, 3-26.

Ugarte, E., Urarte, E., Arrese, F., Arranz, J., Silió, L., Rodríguez, C., 1996. Genetic parameters and trends for milk production of Blond-Faced Latxa sheep using bayesian analysis. J. Dairy Sci. 79, 2268-2277.

Weller, J.I, 1994. Economic aspects of animal breeding. Chapman & Hall. 244p.

RELACIÓN GENÉTICA ENTRE LOS CARACTERES DE TIPO Y LA RENTABILIDAD DE LAS VACAS DE LECHE

M.A. Pérez y R. Alenda
Departamento de Producción Animal – E.T.S.I. Agrónomos (UPM)

INTRODUCCIÓN

El objetivo principal de un ganadero de vacuno de leche es mejorar la rentabilidad de su ganadería. Por eso, la decisión de cuáles van a ser las vacas que se queden en el rebaño y la elección por criterio económico del semen a utilizar tiene una gran importancia. Además, debe decidir a nivel individual, vaca a vaca, cuál es el apareamiento más rentable. Las herramientas disponibles para tomar estas decisiones son los índices de selección, ICO y MEG (Pérez et al., 1999a), que combinan caracteres relacionados con la producción y la longevidad. En estos índices la longevidad está contemplada mediante su relación con los caracteres de tipo. Tradicionalmente se supone que existe una relación lineal entre los caracteres de tipo y la rentabilidad. Se asume que un animal con una mala conformación obtiene menor rentabilidad, porque es menos longevo, que uno con buen índice de tipo. Norman et al. (1996) observaron que a nivel fenotípico algunos caracteres morfológicos presentaban una relación cuadrática con la rentabilidad, como caracteres de óptimo intermedio, y sugerían estudiar estas relaciones a nivel genético. La relación genética de los caracteres de producción con la rentabilidad ha sido estudiada por varios autores, sin embargo, hasta ahora no se tiene constancia de que se haya trabajado en la relación de los caracteres de conformación con la rentabilidad.

En este trabajo se pretende estimar la relación genética de los caracteres de tipo con la rentabilidad anual de cara a la utilización de estas relaciones en programas de apareamiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

A partir de los datos históricos hasta mayo de 2000 del control lechero y de calificación morfológica oficial del País Vasco y Navarra, se consiguió información de producción y conformación de 46325 vacas nacidas entre 1979 y 1994. Se consideraron válidos para el análisis aquellos animales que cumplieron los siguientes requisitos: que pertenecieran a un rebaño que estuviera en control lechero durante 4 años seguidos, cada vaca debía tener la oportunidad de estar en producción en el rebaño al menos 4 años (por tanto, el primer parto debía tener lugar antes del año 1996), la edad al primer parto debía estar comprendida entre los 18 y los 40 meses, el intervalo entre partos no podía ser inferior a los 300 días ni superior a los 550 días y se consideraron como máximo 10 partos por vaca. Los datos económicos correspondieron a la media de las explotaciones del País Vasco durante 1995.

La rentabilidad de cada vaca se calculó (Pérez, 2000) como diferencia entre los ingresos conseguidos a lo largo de toda la vida productiva mediante la venta de leche, terneros y el valor de la vaca de desecho, y los gastos ocasionados por la alimentación y los costes fijos de explotación tanto en el periodo de recría como en el periodo productivo. El beneficio se expresó en pesetas por vaca adulta y año productivo.

Las estimas de la rentabilidad y los parámetros genéticos se calcularon mediante REML utilizando el VCE de Groeneveld y García Cortés (1998), con análisis multicarácter de la rentabilidad y cada uno de los siguientes caracteres de tipo: calificación final, miembros y aplomos, sistema mamario, estatura, profundidad corporal, ángulo podal, vista lateral de patas, textura, inserción anterior, inserción posterior, ligamento suspensor y profundidad de ubre. Los modelos utilizados para la rentabilidad y cada uno de los caracteres de tipo fueron:

$$\text{Rentabilidad} = \mu + RAn + animal + e$$

$$\text{Tipo} = \mu + RVC + LAE + EL + animal + e$$

donde: *RAn* corresponde al efecto Rebaño - Año de nacimiento (8.982 clases), *RVC* es el efecto Rebaño-Visita-Calificador (953 clases), *LAE* es el efecto Lactación-Edad al parto (3 clases), *EL* es el efecto Estado de Lactación (11 clases) y *e* es el error asociado a cada observación.

Las regresiones entre la rentabilidad y los caracteres de tipo se estimaron mediante procedimiento GLM con el paquete estadístico SAS, utilizando el valor genético de los kilos de proteína como covariable para obtener la influencia del tipo sobre la rentabilidad independientemente del nivel de producción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parámetros genéticos

En la Tabla 1 se muestran las estimas de la heredabilidad y las correlaciones genéticas obtenidas para la rentabilidad y los caracteres de tipo estudiados. La heredabilidad de la rentabilidad

obtenida es media (0.24), superior a las obtenidas en los trabajos de Pérez et al. (1999b), posiblemente por disponer de un mayor número de datos, y Visscher y Goddard (1995). Los caracteres de tipo siguen la tónica general de otros estudios realizados anteriormente en el vacuno lechero español (Charfeddine, 1998). Los valores más altos correspondieron a los caracteres de estructura y capacidad (Estatura y Profundidad Corporal), para el sistema mamario se obtuvieron valores intermedios y los más bajos correspondieron a los caracteres de patas (Miembros y Aplomos, Ángulo Podal y Vista Lateral de Patas). Las estimas de la heredabilidad se encontraron comprendidas entre 0.12 (Ángulo Podal) y 0.42 (Estatura).

Las correlaciones genéticas entre la rentabilidad y los caracteres de tipo fueron positivas, excepto para la Profundidad Corporal y la Profundidad de Ubre. El trabajo de Pérez et al. (1999b) obtiene también una relación negativa con estos dos caracteres pero más acusada. Esto indicaría que una ubre demasiado profunda podría dar lugar a problemas sanitarios y que animales grandes tendrían necesidades alimenticias mayores, lo que incrementaría los gastos en detrimento de la rentabilidad, aunque, al ser las correlaciones tan próximas al cero, sería más objetivo afirmar que la correlación de estos dos caracteres con la rentabilidad es inexistente. Cassell et al. (1990) estimaron una correlación negativa entre valores genéticos para la Profundidad Corporal pero positiva con la Profundidad de la Ubre, tanto para las vacas del Libro Genealógico como para las que no estaban en él.

Miembros y Aplomos, Ángulo Podal y Vista Lateral de Patas están ligeramente correlacionados de forma positiva con la rentabilidad anual. Esto podría deberse a que estos caracteres están relacionados con la longevidad, ya que un animal que no tenga problemas de patas y su producción sea aceptable, permanece en el rebaño sin ser desechado. Dekkers et al. (1994) también encontraron una relación positiva entre la Vista Lateral de Patas y la rentabilidad, aunque hay que tener en cuenta que este carácter es de óptimo intermedio y su interpretación debe ser cuidadosa.

El Sistema Mamario está positivamente correlacionado con la rentabilidad, excepto la Profundidad de la Ubre, en un rango comprendido entre 0.18 (Inserción Anterior) y 0.40 (Ligamento Suspensor), resultados acordes con los obtenidos por Norman et al. (1981) y Cassell et al. (1990). Esto parece indicar que una ubre bien sujeta y conformada soportan una buena producción y disminuyen los riesgos de contraer ciertas enfermedades, con lo que aumenta la rentabilidad.

Tabla 1. Estimas de la heredabilidad y correlaciones genéticas entre la rentabilidad y los caracteres de tipo.

	h^2	Correlación con rentabilidad
RENTABILIDAD	0.24 ± 0.01	
CALIFICACIÓN FINAL	0.32 ± 0.01	0.33 ± 0.03
MIEMBROS Y APLOMOS	0.13 ± 0.01	0.25 ± 0.04
Estatura	0.42 ± 0.01	0.21 ± 0.03
Profundidad Corporal	0.29 ± 0.01	-0.01 ± 0.03
Ángulo Podal	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.04
Vista Lateral de Patas	0.16 ± 0.01	0.11 ± 0.04
SISTEMA MAMARIO	0.29 ± 0.01	0.31 ± 0.03
Textura	0.17 ± 0.01	0.25 ± 0.03
Inserción Anterior	0.19 ± 0.01	0.18 ± 0.01
Inserción Posterior	0.29 ± 0.01	0.38 ± 0.03
Ligamento Suspensor	0.24 ± 0.01	0.40 ± 0.03
Profundidad de Ubre	0.20 ± 0.01	-0.07 ± 0.03

Relación con rentabilidad

El Gráfico 1 muestra las relaciones observadas entre las predicciones genéticas de la rentabilidad y los valores genéticos de Calificación Final, Miembros y Aplomos, Sistema Mamario y Profundidad de la Ubre. Se ha hecho coincidir el cero de rentabilidad con un índice genético cero para observar más fácilmente los incrementos de rentabilidad al variar la valoración genética. En todos los casos que fueron significativos ($P<0.0001$), tanto el modelo lineal como el cuadrático tenían una R^2 comprendida entre el 47 y 48%.

En el caso de los Miembros y Aplomos, la relación cuadrática conseguía una mejor explicación con menor error, lo que se observa claramente en el Gráfico. A la vista de estos resultados, se podría concluir que utilizar un toro con valor genético de patas igual a –2 (lo que generalmente un ganadero consideraría malas patas) transmitiría a su descendencia una oscilación

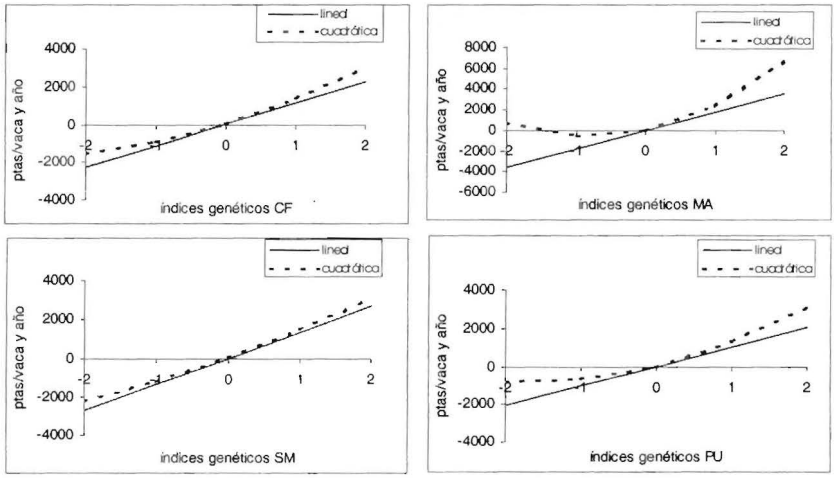
nula de la rentabilidad, al igual que otro toro con índice genético de patas igual a 0, es decir, no empeoraría la rentabilidad de la descendencia, mientras que utilizar animales con índices positivos de Miembros y Aplomos haría incrementar la rentabilidad más acusadamente. Para la Vista Lateral de Patas y Ángulo Podal las relaciones también fueron cuadráticas y las conclusiones similares.

La relación entre el Sistema Mamario y la Calificación Final con la rentabilidad es prácticamente lineal, aunque la regresión cuadrática en ambos casos es significativa (P<0.0001) y aportan el 47% y 48% de la rentabilidad, respectivamente.

Además de los caracteres antes mencionados, resultaron significativas los coeficientes cuadráticos para Estatura, Textura, Inserción Posterior y Profundidad de Ubre. Éste ultimo se asocia a la producción de leche: a mayor Profundidad de Ubre mayor producción de leche, pero también mayor probabilidad de infecciones. En el Gráfico 1, se observa algo similar a lo que ocurre con los Miembros y Aplomos. Valores negativos de Profundidad de Ubre apenas penalizan la rentabilidad de la descendencia (puede que la producción de leche sea algo inferior pero se compensa con un menor gasto sanitario) y valores positivos lo mejoran con mayor énfasis, aunque en menor escala que las patas.

En un programa de apareamiento habría que tener en cuenta que algunos caracteres no siguen una relación genética lineal con la rentabilidad, como es el caso de los Miembros y Aplomos y la Profundidad de Ubre, lo que permitiría utilizar animales con índices genéticos negativos sin perjuicio de la rentabilidad de su descendencia.

Gráfico 1. Relación del valor genético de la rentabilidad anual por vaca en función de los índices genéticos de Calificación Final (CF), Miembros y Aplomos (MA), Sistema Mamario (SM) y Profundidad de Ubre (PU), mediante relación lineal y cuadrática (P<0.0001), con el valor genético de la proteína como covariable.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cassell, B.G., Pearson, R.E., Stoel, J. and Hiemstra, s. 1990. *J. Dairy Sci. 73:198-204.*

Charfeddine, N. 1998. *Tesis doctoral. Dpto. Producción Animal, E.T.S.I.Agrónomos, Madrid.*

Dekkers, J.C.M., Jairaith, L.K. and Laurance, B.H. 1994. *J. Dairy Sci. 77:844.*

Groeneveld, E. and García Cortés, L.A. 1998. *Proc. 6th. World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Vol. 27:455-456.*

Norman, H.D., Cassell, B.G., Pearson, R.E. and Wiggans, G.R. 1981. *J. Dairy Sci. 64:104-113.*

Norman, H.D., Powell, R.L., Wright, J.R. and Pearson, R.E. 1996. *J. Dairy Sci. 79:689-701.*

Pérez, M.A., Charfeddine, N. Y Alenda, R. 1999a. *BOVIS 90:13-37.*

Pérez, M.A., Hernández, D., Alenda, R., Carabaño, M.J. and Charfeddine, N. 1999b. *Proc. International Workshop on EU Concerted Action on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle (GIFT); Breeding Goals and Selections Schemes. Wageningen, The Netherlands. Bulletin 23:107-113.*

Pérez, M.A. 2000. *Frisona Española 119:84-86.*

Visscher, P.M. and Goddard, M.E. 1995. *Animal Science 61:9-18.*

ANÁLISIS GENÉTICO DE LOS CARACTERES VELOCIDAD DE ORDEÑO, RECUENTO CÉLULAS SOMÁTICAS Y CONFORMACIÓN DE LA UBRE.

M. Fernández*, R. Alenda*
*Departamento de Producción Animal. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos.U.P.M. Madrid.

INTRODUCCIÓN.

Las enfermedades relacionadas con la sanidad de la ubre y sobre todo la mamitis, causan notables pérdidas en las explotaciones de vacuno lechero. El estudio de los caracteres más relacionados con la resistencia a mamitis como son la velocidad de ordeño y el recuento de células somáticas, se refleja en el artículo de Boettcher et al.(1998). Sin embargo, una buena conformación de ubre contribuye a disminuir la mamitis dentro de las explotaciones. Por este motivo es necesario ponderar en un Índice de sanidad de la ubre estos caracteres. Este Índice permite seleccionar los animales más resistentes a la enfermedad y aumentar la rentabilidad de las explotaciones. Al incluir la resistencia a mamitis como parte del índice económico se obtiene una mayor respuesta que cuando se selecciona únicamente por producción (Heringstad et al., 2000). El objetivo de este trabajo es presentar los resultados obtenidos al analizar los caracteres de conformación de la ubre y su relación con otros caracteres de tipo funcional como son la VO y el RCS

MATERIAL Y MÉTODOS.

Para realizar este estudio se utilizaron un total de 8.441 vacas en 1ª lactación pertenecientes a la población frisona del País Vasco, todas ellas con datos completos de velocidad de ordeño (VO), recuento de células somáticas transformado (RCST) y los 8 caracteres lineales de conformación de ubre. La genealogía correspondiente estaba formada por un total de 24.750 animales (14.304 hembras y 2.187 machos).

El carácter V.O es evaluado por el ganadero en una escala de 1 (fácil) a 3 (difícil), durante el 1er o 2º control de la primera lactación. El dato de RCST, corresponde a la media por lactación del dato de recuento celular (RCS) de cada control, transformado según una escala logarítmica tal y como proponen Ali y Shook (1980). Además, este dato es precorregido (Chafferddine, 1998, Banos y Shook, 1990 y Zhang et al,1994), según las estimas de los efectos número de lactación-estado de lactación, fecha de control y la covariable producción de leche por control. Estas estimas se calculan utilizando el procedimiento GLM (SAS, 1995).

En cuanto a los caracteres de conformación de ubre considerados: textura (TX), inserción anterior (IA), inserción posterior (IP), ligamento suspensor medio (LSM), profundidad ubre (PU), colocación pezones posteriores (CPP), colocación pezones anteriores (CPA), longitud pezones anteriores (LPA), son evaluados en una escala de 1 a 9, por los calificadores oficiales de CONAFE.

Las estimas de los parámetros genéticos, se han calculado utilizando metodología REML, modelo animal multicarácter (VCE de Groeneveld y Cortés, 1998). Este análisis consideraba cada vez RCST, VO y cada uno de los caracteres de conformación de la ubre. El modelo para VO tenía en cuenta como efectos fijos los factores rebaño-año de parto (con 2.200 niveles) y la estación de parto (3 niveles). Para el carácter RCST, se consideró solamente como efecto fijo el rebaño-año, puesto que se trataba de vacas en primera lactación (Fernández et al. 2000). Para cada uno de los caracteres de conformación de la ubre, se incluyeron como efectos fijos el efecto rebaño-

fecha de calificación (2.957 niveles), el estado de lactación en el momento de la calificación (11 niveles) y la edad de la vaca (31 niveles). Todos los modelos consideraban el animal como efecto aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra la media y la desviación estándar de los caracteres analizados. En la tabla 2, se presentan las heredabilidades obtenidas para los distintos caracteres. La tabla 3, muestra las correlaciones genéticas encontradas entre los caracteres de conformación de la ubre, con VO y RCST, respectivamente. A la vista de estos resultados, los caracteres de ubre más correlacionados con VO son TX, CPA y LPA (-0,42, -0,24 y 0,24, respectivamente). El carácter textura de la ubre, está muy relacionado con la capacidad que presenta el animal para almacenar leche, sin embargo, el carácter VO, (evaluado por el ganadero de forma subjetiva) no presenta ninguna relación con la cantidad de leche que produzca un animal (Fernández et al. 2000). Además, este carácter de conformación de la ubre presenta una heredabilidad de 0,09, lo cual cuestiona su introducción en el Indice. En cuanto al carácter CPA, una buena colocación de los pezones anteriores, facilita la labor de ordeño y evita accidentes, por tanto, los pezones más separados o fuera de los cuartos, más dificultad presentará su ordeño. Para el carácter LPA, unos pezones muy largos, suponen una mayor complicación en el ordeño.

En cuanto a los caracteres más correlacionados con RCST, una ubre muy profunda, es más susceptible a la infección por mamitis, y presentará un mayor recuento celular. Los resultados de correlación genética de este carácter con recuento celular son similares a los obtenidos por Boettcher et al. , (1998), y algo inferiores a los obtenidos en Francia por Rupp y Boichard, (1999) (-0,26 y -0,4, respectivamente). Tanto CPA, como CPP, presentan una correlación positiva de 0,25 y 0,26 respectivamente con RCST, según esto, cuanto más separados o fuera de los cuartos estén los pezones menor será el recuento celular, por el contrario, unos pezones muy juntos tendrán más riesgo de contagiarse.

Los caracteres de conformación de la ubre candidatos para participar en el índice de sanidad de la ubre podrían ser profundidad de la ubre, longitud de pezones anteriores y colocación de pezones anteriores. Además, estos caracteres presentan unas heredabilidades superiores a 0,25 tal y cómo muestra la tabla 2. En Canadá (Boettcher et al. ,1998), el subíndice de sanidad de la ubre incluye únicamente como carácter de conformación de ubre la profundidad (PU), por ser el carácter que más correlación presenta con VO y con RCST (0,18 y -0,26 respectivamente). Sin embargo, en Holanda, de Jong y Lansbergen L., (1996), incluyeron además de PU, la IP en el índice de sanidad de la ubre, a pesar de no comparar estos caracteres de ubre con la velocidad de ordeño. La IP, en nuestro caso, no presenta una correlación importante ni con velocidad de ordeño, ni con recuento celular.

El siguiente paso, sería cuantificar los pesos económicos de estos caracteres y ponderarlos en un índice. Un índice de selección de salud de la ubre permite seleccionar animales más resistentes a mamitis y, por tanto, aumentar la rentabilidad de las explotaciones (Fernández et al., 2000.). La combinación del recuento celular, la velocidad de ordeño y los caracteres de morfológicos de la ubre que presentan mayor correlación genética, en un índice compuesto de resistencia a mamitis permite superar la respuesta conseguida mediante selección directa (Charffeddine, 1999).

Tabla 1: Media y desviación de los caracteres analizados. VO (velocidad de ordeño), RCST (recuento celular transformado), TX (textura), IA (inserción anterior), IP (inserción posterior), LSM (ligamento suspensor medio), PU (profundidad ubre), CPP (colocación pezones posteriores), CPA (colocación pezones anteriores), LPA (longitud pezones anteriores), d.s (desviación standard)

	V.O.	RCST.	TX.	IA.	IP.	LSM.	PU.	CPP.	CPA.	LPA.
media	1,81	4,10	5,11	4,6	5,2	5,65	5,77	4,4	6,17	4,89
d.s	0,51	1,27	1,26	1,17	1,09	1,34	1,50	1,45	1,49	1,19

Tabla 2: Heredabilidades de los caracteres: VO (velocidad de ordeño), RCST (recuento celular transformado), TX (textura), IA (inserción anterior), IP (inserción posterior), LSM (ligamento suspensor medio), PU (profundidad ubre), CPP (colocación pezones posteriores), CPA (colocación pezones anteriores), LPA (longitud pezones anteriores).

V.O.	RCST.	TX.	IA.	IP.	LSM.	PU.	CPP.	CPA.	LPA.
0,12	0,16	0,09	0,14	0,25	0,20	0,30	0,26	0,26	0,31

Tabla 3: Correlaciones genéticas entre los caracteres de conformación de la ubre, velocidad de ordeño y recuento celular.

	VO.	RCST.	TX.	IA.	IP.	LSM.	PU.	CPP.	CPA.	LPA.
VO		-0,59	-0,42	-0,21	0,06	-0,18	-0,02	-0,18	-0,24	0,24
RCST			-0,01	-0,10	0,00	0,08	-0,24	0,26	0,25	-0.01

REFERENCIAS.

Ali, A. K. A., Shook, G. E. 1980.An optimun transformation of somatic cell concentration in milk production. *J. Dairy Sci. 63:487*

Banos, G., Shook, G. E. 1990. Genotype by environment interaction and genetic correlations among parities for somatic cell count and milk yield. *J. Dairy Sci. 73:2563*.

Boettcher, P. J, Dekkers, J. M. C., Kolstad, B. W. 1998. Development of an Udder health index for sire selection based on somatic cell score, udder conformation, and milking speed. *J. Dairy Sci. 81:1157.10*

Charfeddine, N. 1998. Selección por Mérito Económico Global en el ganado vacuno frisón en España. *Tesis Doctoral. E.T.S.I.A. UPM. Madrid.*

Charffeddine N.,1999.Utilidad del recuento celular como criterio de selección para reducir la incidencia de mamitis.*Frisona española Nº 110.Pag:43:51*

Fernández et al.2000. Estudio del carácter velocidad de ordeño y recuento de células somáticas en primera lactación de la población vacuna frisona del País Vasco. ITEA (en prensa)

Groeneveld, E. Y García Cortés, A.1998.VCE 4.0. A covariance component package for frecuentist and Bayesians.6th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Armidale,Australia.

Heringstad B., Klemetsdal G., Ruane J..2000- Selection for mastitis resisitance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries.Livestock Production Science.64 (2000) 95-106

de Jong y Lansbergen L., 1996. Udder Health index: selection fro mastitis resistance. *Interbull Bulletin nº 12,*.

Rupp R., Boichard D. 1999. Genetics Parameters for clinical Mastitis, Somatic cell Score, production, Udder Type Traits,and Milking ease in First Lactation Holstein. Journal Dairy Science 82:2198-2204

SAS/STAT.User's Guide, Relase 6.11. 1995. *SAS Inst., Inc., Cary, NC*

POLIMORFISMOS DE 13 MICROSATÉLITES EN UNA LINEA SELECCIONADA DE CONEJOS.

J. S. Vicente , M.P. Viudes-de-Castro+,R. Lavara, E. Mocé.
Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción
Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia
46071-Valencia (España), Jvicent@dca.upv.es
+División de Producción Animal
EPSO, Universidad Miguel Hernández
03312-Orihuela, Alicante (España), mp.viudes@umh.es

INTRODUCCIÓN

La identificación de marcadores genéticos suficientemente polimórficos en una especie facilita la elaboración del mapa genético, así como la identificación de un individuo, de una población o quizás la detección de QTL's. De los 157 microsatélites localizados en genes de ADN nuclear detectados en el banco de secuencias nucleótidas de conejo de EMBL por van Lith y Zutphen (1996), 13 han sido descritos por van Haeringes *et al.* (1996) y otros 18 han sido localizados y desarrollados a partir de la construcción de una genoteca de pequeños fragmentos de restricción obtenidos de ADN de estirpes salvajes de *Oryctolagus cuniculus* (Mougel *et al.*, 1997; Surridge *et al.*, 1997). Los estudios realizados con algunos de estos marcadores se han dirigido fundamentalmente a estudios evolutivos y de caracterización de razas de esta especie (Monnerot *et al.*, 1996).

En los trabajos realizados el número de alelos por marcador oscila entre 2 (locus Lap7) y 15 (locus Sol33) presentando la mayor parte de ellos una frecuencia alélica entre 0,14 y 0,25 (4-7 alelos por marcador).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la diversidad alélica de 12 de estos marcadores genéticos sobre individuos de una línea seleccionada de conejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 22 conejos machos pertenecientes a la línea R de la U.P.V.. La extracción del ADN se realizó a partir de fragmentos de oreja mediante el kit QIAmp (QIAGEN). La amplificación se llevó a cabo en una mezcla de 10µl que contenía en torno a 20ng de ADN, 1µM de cada cebador, 100µM de dGTP, dCTP, dTTP, y 5µM de ATP, 0,04µl de dATP- $P^{\alpha 33}$ a $3{,}7*10^{13}$Bqmmol^{-1}, 75mM de tampón TRIS-HCl (Promega), 1 a 1,5 mM de Cl_2Mg y 0,2 u de Taq-polimerasa (Promega).

Las condiciones de amplificación de cada uno de los microsatélites se describe en la Tabla 2. La extensión final de cada una de las amplificaciones fue de

10 minutos a 72ºC. El ADN amplificado fue mezclado con 3• l de solución stop y calentado a 95ºC durante 5 minutos antes de cargar un gel desnaturalizante al 6% de poliacrilamida.

Tabla 1. Microsatélites utilizados y nº de alelos observados (van Haeringes *et al.* 1996, Mougel *et al.*, 1997; Surridge *et al.*, 1997).

Locus	Origen	Nº EMBL	Nº de alelos	Tamaño (pb)
Sat2	α_{s1}-Caseína	M77195	4	251-253
Sat3	Mielina P_2	J03744	7	146-162
Sat4	α-Caseína	M33582	5	195-240
Sat5	Clon	X99887	6	206-234
Sat7	Clon	X99888	6	183-195
Sat8	Clon	X99889	4	136-158
Sat12	Clon	X99891	4	122-138
Sat13	Clon	X99892	5	114-128
Sat16	Clon	X99890	3	109-115
Sol33	Clon	X94683	15	189-219
Sol44	Clon	X94684	9	178-208
Lap5	MAE		5	112
Lap6	ANA		6	240

Tabla 2. Condiciones de amplificación de los microsatélites.

Locus	Cl_2Mg/PCR	Ciclo
Sat2	1,0 mM	(94ºC-30s/55ºC-30s/72ºC-30s)*36
Sat3	1,5 mM	(94ºC-30s/60ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat4	1,0 mM	(94ºC-30s/60ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat5	1,0 mM	(94ºC-30s/60ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat7	1,5 mM	(94ºC-30s/60ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat8	1,0 mM	(94ºC-30s/60ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat12	1,0 mM	(94ºC-30s/55ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sat13	1,0 mM	(94ºC-30s/55ºC-30s/72ºC-30s)*36
Sat16	1,5 mM	(94ºC-30s/55ºC-30s/72ºC-30s)*30
Sol33	1,0 mM	(94ºC-30s/52ºC-30s/72ºC-30s)*35
Sol44	1,0 mM	(94ºC-30s/62ºC-30s/72ºC-30s)*35
Lap5	1,0 mM	(94ºC-30s/61ºC-30s/72ºC-30s)*30
Lap6	1,0 mM	(94ºC-30s/61ºC-30s/72ºC-30s)*30

MAE: Molécula 1 de adhesión endotelial.

AN-A: Arilmanina N-acetiltransferasa.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de alelos y su frecuencia en los microsatélites evaluados para la línea R (Tabla 3) fue menor que los observados en las estirpes de conejo silvestre que sirvieron para la puesta a punto de estos marcadores y ligeramente inferior a la observada en diferentes razas de conejo (Bolet *et al.*, 2000). El número medio de alelos para los 9 microsatélites (Sat2 a Sat16) en razas como el Gigante de España, la liebre Belga o el Gigante de Flandes es similar a la obtenida en la línea R (3,2) y ligeramente inferior al Blanco de Viena (4,2) frente al conejo silvestre en España (9,1; Vachot, 1996). Los marcadores Sat5, Sol44 y Lap6 no muestran ninguna variabilidad (un sólo alelo de 228, 210 y 232 pb, respectivamente) y sobre todos los marcadores Sol33 y Sol44 evaluados en poblaciones de conejo silvestre en Gran

Bretaña con un elevado número de alelos (9 y 15) tan sólo presentan en la línea R 2 y 1 alelo respectivamente.

Por lo tanto, la diversidad genética derivada del uso de estos marcadores es muy baja y dificulta su utilización dentro de esta línea seleccionada.

Tabla 3. Número y frecuencia de los alelos observados.

Sat2	Sat3	Sat12	Sat4	Sat7	Sat8	Sat13	Sat16	Sol33	Lap5
Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr	Alelo-Fr
249-0.296	164-0.023	134-0.182	241-0.409	195-0.068	156-0.205	128-0.400	113-0.046	214-0.841	120-0.796
247-0.273	162-0.364	130-0.409	238-0.364	191-0.500	140-0.409	120-0.550	111-0.159	207-0.159	110-0.204
241-0.386	158-0.023	126-0.273	195-0.227	183-0.432	136-0.386	114-0.050	109-0.796		
239-0.045	150-0.059	122-0.136							

Alelo-Fr: tamaño del alelo en pares de bases y frecuencia observada.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen los consejos y ayuda técnica de la Dra. M. Monnerot y N. Dennebouy del CNRS de Gif sur Yvette.

Este estudio ha sido financiado por el proyecto de CICYT AGF98-0470.

BIBLIOGRAFÍA

Bolet, G.,Brun, J.M., Monnerot, M. y col. 2000. Evaluation and conservation of european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) genetic resources. First results and inferences. WII World Rabbit Congress, Vol A: 281-316.

Monnerot, M., Loreille, O., Mougel, F. , Vachot, A.M., Dennebouy, N., Callou, C., Vigne, J.D. 1996. The European Rabbit: wild population evolution and domestication. VI World Rabbit Congress, Vol 2: 331-334.

Mougel, F., Mounolou, J-C, Monnerot, M. 1997. Nine polimorphic microsatellites loci in the rabbit., *Oryctolagus cuniculus*. Animal Gentics 18: 58.

Surridge, A.K., Bell, D.J., Rico, C., Hewitt, G.M. 1997. Polymorphic microsatellites loci in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) are also amplified in other lagomorph species. Animal Genetics 28: 302-305.

Vachot, A.M. 1996. Homologies et singularités interspecifiques et intraspécifiques. Tesis Doctoral, Universidad Paris XI Orsay.

Van Haeringes, W. A., den Bieman, M., van Zutphen, L.F.M., van Lithz, H.A. 1996. Polymorphic microsatellite DNA markers in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J. Exp. Anim. Sci 38: 49-57.

Van Lithz, H.A., van Zutphen, L.F.M. 1996. Characterization of rabbit DNA-microsatellites extracted from the EMBL nucleotide sequence data base. Animal Genetics 27: 387-395.

Identificación de regiones reguladoras del gen de la miostatina.

L.J. Royo[1,2], L. Grobet[2], D.Poncelet[2], D. Pirottin[2], V. Marot[2], B. Brouwers[2], S. Dunner[3], M. Georges[2].

1 Sección de Mejora Genética, CENSYRA-SERIDA-Somió, 33203-Gijón (Asturias); 2 Departament of genetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege (B43), 20 Bd. De Colonster, 4000- Liege, Belgium; 3 Laboratorio de Genética, Dpto. Producción Animal, U.C.M. 28040 Madrid.
E-mail: luisroma@princast.es

INTRODUCCIÓN

Utilizando la estrategia de clonado de candidatos posicionales se ha identificado una serie alélica de mutaciones en el gen de la miostatina bovina responsables del carácter culón en varias razas bovinas europeas (Grobet y col., 1997; Grobet y col., 1998; Kambadur y col., 1997; McPherron y Lee 1997; Cappuccio y col., 1999). El gen de la miostatina codifica para una proteína que presenta las características típicas de los miembros de la familia de factores de crecimiento TGF-β: un péptido señal, un péptido latente asociado y un dominio carboxiterminal (McPherron y col, 1997).

La miostatina se detecta a una edad temprana en los somitos en desarrollo, y su expresión se mantiene en el animal adulto fundamentalmente en tejido muscular esquelético (McPherron y col, 1997). También se ha detectado la presencia de ARN mensajero en músculo cardiaco y glándula mamaria (Ji y col., 1998). En músculo en fase de regeneración se detecta en las células mononucleadas en la periferia de las fibras musculares.

El objetivo de la presente comunicación es contribuir al conocimiento de los mecanismos que regulan la expresión de la miostatina. Para ello se utilizó un análisis de secuenciación comparativa entre las secuencias bovina y de ratón, y se secuenciaron 17,4 kb. y 15,3 kb. de la secuencia bovina y de ratón a partir de clones de ADN genómico de genotecas comerciales en fago λ.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos genotecas bovinas comerciales de ADN genómico (Clontech BL1015j y Stratagene 946702) y una de ratón (Clontech ML1043j) en fago λ para identificar 2 clones bovinos y uno de ratón que completaban la secuencia del ADN codificante más las regiones en 5' y 3' del gen. Los clones fueron identificados por hibridación utilizando como sonda el ADN codificante de la miostatina bovina, obtenido por RT-PCR de ARN mensajero muscular esquelético (Grobet y col., 1997). Los clones se caracterizaron por PCR utilizando oligos específicos de la secuencia de la miostaina y de los brazos del vector de clonado.

Se amplificaron los insertos de los clones elegidos mediante protocolos de *Long-PCR*, y se secuenciaron completamente sus dos hebras. Los productos PCR resultantes se secuenciaron siguiendo una estrategia de *shot-gun* mediante un protocolo de secuenciación cíclica (*Dye terminator Cycle sequencing*) en un secuenciador automático ABI 373. Para completar los huecos de la secuencia se diseñaron oligos y se secuenciaron por mediante una estrategia de *primer-walking*. La posterior unión de los contig de secuencias se llevo a cabo utilizando las

aplicaciones phred/phrap/consed (Ewing y col., 1998; Ewing y Green, 1998; Gordon y col., 1998).

Las secuencias se analizaron usando los programas COMPARE y GAP del grupo de programas GCG.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Secuenciación. Las dos secuencias obtenidas cubrieron la secuencia codificante del gen, los dos intrones que la interrumpen, más secuencias de 5 kb. de media en 5' y 3'. La secuencia de la miostatina bovina consta de 17.417 pb., y la de ratón 15.312 pb.

Comparación de las secuencias bovina y de ratón. Las dos secuencias se compararon utilizando una matriz de puntos llevado a cabo con el programa COMPARE. Este programa coloca cada secuencia en un eje, las va comparando por ventanas de 21 nucleótidos y coloca un punto cuando al menos 16 de ellos son iguales (Figura 1).

A partir de la base 1.300 de la miostatina bovina empieza la homología y sigue una línea diagonal. De la posición 12.300 hasta la 15.860 se observa una zona no conservada, la línea de homología continúa hasta el final de la secuencia bovina. La secuencia del ratón se continúa durante unas 2.700 pb. más.

La zona de pérdida de homología representa un proceso de inserción-delección que debió ocurrir durante la divergencia de las dos especies, debe representar una inserción debida a una retrotransposición de un fragmento de 3.560 pb. deducido por la presencia de elementos SINE bovino. El comienzo de la homología coincide con los límites de otro elemento SINE bovino, lo que puede indicar otro fenómeno de inserción. Se eliminaron las secuencias de fuera de la región de homología y se analizaron con el programa GAP, que asigna a las secuencias un porcentaje de homología (Figura 2).

El grado de conservación es alto en las regiones de los exones. A parte de la región codificante, se pueden señalar 4 regiones altamente conservadas, cuya homología está por encima del 80%. Las 4 regiones están señaladas en la Figura 2.

La región 1, situada inmediatamente en 5' del exón1, debe tratarse de la región del promotor. Esto se confirmó posteriormente cuando se identificó en esta región las secuencias correspondientes a una TATA-box y una CAAT-box conservadas en la secuencia bovina y de ratón.

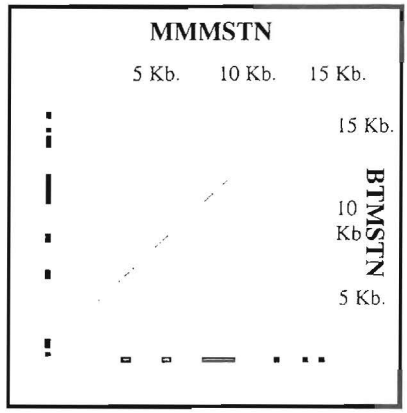
Las regiones 2, 3 localizadas en 5' del gen, y la 4 en el intrón 1, son candidatas a estar implicadas en la regulación de la expresión del gen.

Los módulos reguladores de la expresión muscular están formados por secuencias de unos 200 pb. donde se agrupan varios factores de transcripción músculo específicos. Estos módulos reguladores normalmente se localizan en las regiones 5', intrón 1 y 3' de los genes. La búsqueda de estos factores de transcripción se llevó a cabo usando un algoritmo de regresión logística para la predicción de módulos reguladores músculo-específico. En estos estudios se incluyeron los factores siguientes: Tef, Sp-1, MEF-2, Myf, SRF y MyoD (Wasserman y Fickett, 1998).

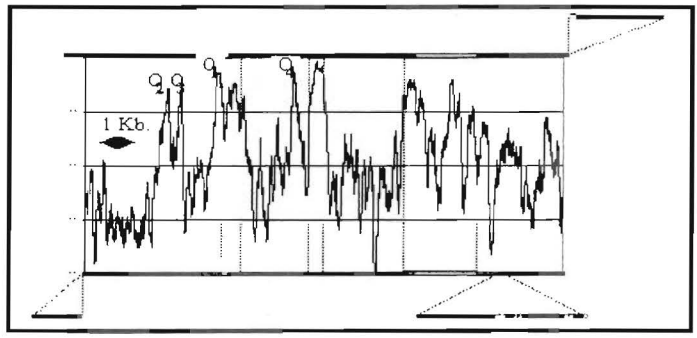
El análisis de regresión logística no identificó ningún factor de transcripción típico muscular. Sin embargo esto no tiene por qué estar en desacuerdo con la conocida expresión muscular de la miostatina. O bien pueden existir en estas regiones factores de transcripción aún no descritos, o bien estos factores de transcripción se encuentran situados en otras zonas no secuenciadas. Las zonas

identificadas deberán ser tenidas en cuenta en el desarrollo de protocolos de modificación de la miostatina, y serán la base para posteriores estudios de funcionalidad.

- Figura 1:



- Figura 2:



REFERENCIAS BIBILOGRÁFICAS.

- Capuccio I., Marchitelli C., Serracchioli A., Nardone A., Filippini F., Ajmone-Marsan P., Valentini A. (1998). *Animal Genetics*, **29** (suppl. 1): 51.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., Green, P. (1998). *Genome Research*, **8(3)**:175-185.
- Ewing, B. y Green, P. (1998). *Genome Research*, **8(3)**:186-194.
- Gordon, D., Abajian, C., Green, P. (1998). Genome Research 8(3): 195-202.
- Grobet L., Royo L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoberlein A., Dunner S., Menissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M. (1997). *Nature Genetics*, **17**: 71-74.
- Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Menissier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M. (1998). *Mammalian Genome*, **9**: 210-213.Kambadur R.,
- Ji S, Losinski RL, Cornelius SG, Frank GR, Willis GM, Gerrard DE, Depreux FF, Spurlock ME. (1998). *Am J Physiol.*, **275**: 265-73.
- McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.-J. (1997). *Nature*, **387**: 83-90.
- McPherron A.C., Lee S.-J. (1997). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 12457-12461.
- Wasserman W.W. y Fickett J.W. (1998). *Journal of Molecular Biology*, **278**: 167-181.

IDENTIFICACIÓN DE LOS DISTINTOS HAPLOTIPOS DEL GEN DE LA MIOSTATINA EN RAZAS BOVINA EUROPEAS

Miranda ME.[1]; Cañón J.[1]; Ménissier F.[2]; Hanset R.[3]; Williams J.[4]; Dunner S. [1]

[1]Laboratorio de Genética. Dpto de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. 28040 Madrid. [2]INRA-SGQA, 78352 Jouy-en-Josas. Francia. [3] Association des Eleveurs de la race Blanc-Bleu Belge. 5590 Ciney. Bélgica. [4]Roslin Institute. Roslin. Midlothian. EH25 9PS, Reino Unido.

INTRODUCCIÓN

La hipertrofia muscular bovina es un síndrome que se caracteriza por un elevado desarrollo muscular en detrimento del tejido adiposo y conjuntivo, y en general por un aprovechamiento y una valoración mayor de las canales. La causa genética que originó la aparición de este carácter ha sido determinada recientemente (Mc Pherron y col., 1997; Grobet y col., 1997; Kambadur y col., 1997; Smith y col., 1997) y consiste en la aparición de mutaciones que afectan al gen de la miostatina, en virtud de las cuales la proteina resultante está incapacitada para la realización correcta de sus funciones biológicas.

La miostatina es un factor de crecimiento perteneciente a la familia de los factores de transcripción TGF-β y como todos ellos muestra una secuencia de aminoácidos característica, así como la formación de dímeros mediante puentes disulfuro, estando implicada en fenómenos de desarrollo y diferenciación celular.

Hasta el momento se han encontrado 6 mutaciones que alteran de forma definitiva la estructura de la miostatina, (Grobet y col. 1998; Capuccio y col. 1998) bien mediante la aparición de un codon sin sentido (nonsense) o bien un cambio aminoacídico (missenese) que daña alguno de los puentes disulfuro necesarios para la adquisición de la estructura cuaternaria de la proteína. Asimismo, hay descritos un cierto número de polimorfismos intrónicos y una mutación conservada cuyo efecto sobre la proteína está aun por determinar.

La evaluación de la influencia que ejercen las diferentes mutaciones o polimorfismos del gen de la miostatina sobre el fenotipo es el objetivo de este proyecto (Proyecto Europeo de Demostración BIO4CT98-0421). El primer paso consiste en la descripción del mayor número posible de mutaciones y polimorfismos; para ello rastreamos, mediante la técnica de SSCP (Single Strand Conformation polymorphisms, Orita y col.,1989) que se basa en la migración diferenciada de fragmentos PCR desnaturalizados en función de su secuencia nucleotídica, la secuencia del gen de la miostatina en busca de nuevas mutaciones. Así mismo, con el fin de poder definir haplotipos utilizamos la técnica PASA (PCR Amplification of Specific Alleles, Wu y col.,1989; Sommer y col., 1989), basada en el hecho de que la especificidad de un cebador depende esencialmente de la perfecta complementariedad de bases de su extremo 3' con la secuencia diana. De esta manera ha sido posible definir 20 haplotipos diferentes, que se presentan con frecuencias muy diversas en diferentes razas bovinas europeas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras y extracción de ADN. Se ha procedido a la extracción de ADN mediante el método Watt y Watt (1992) de 670 muestras de sangre de animales pertenecientes a distintas razas bovinas europeas: españolas (Asturiana de Valles y de Montaña, Rubia Gallega, Pirenaica), francesas (Parthenais, Maine-Anjou, Charolais, Limousin, INRA95, Gascon, Bazadais, Blonde d'Aquitaine, Normande, Salers, Aubrac), belga: Blanc Bleu Belge Mixte) y británicas (South Devon, Hereford, Ayrshire, Aderdeen Angus, Beef Shorthorn, Galloway, Devon, Longhorn).

PCR-SSCP. Para identificar las mutaciones presentes en las diferentes razas diseñamos 8 parejas de cebadores que amplifican los 3 exones del gen de la miostatina así como las secuencias intrónicas flanqueantes (Figura 1). Las amplificaciones se agruparon en 4 reacciones PCR-dúplex y se visualizaron en

geles de SSCP (Figura 2). Las condiciones de amplificación y los parámetros de optimización de electroforesis se describieron en (Miranda y col. 1999).

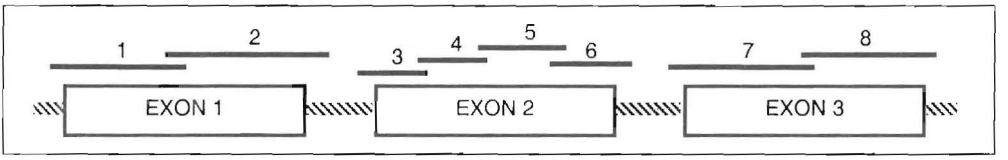


Figura 1. Representación de los 3 exones del gen de la miostatina y la ubicación de los 8 fragmentos PCR que son amplificados en el estudio.

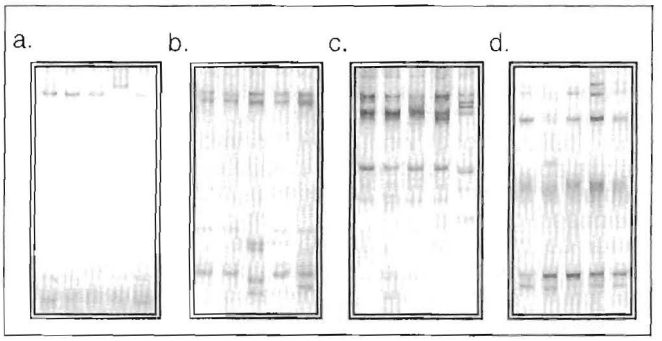


Figura 2. Imagen de las 4 PCR-dúplex en geles de SSCP. En cada uno de ellos y de arriba abajo vemos los siguientes fragmentos PCR con las imágenes propias de los diferentes polimorfismos.
a) Fragmentos 2 y 8.
b) Fragmentos 6 y 3.
c) Fragmentos 5 y 4.
d) Fragmentos 7 y 1.

PASA. Esta técnica la aplicamos en individuos heterozigotos para diversas mutaciones aislando los dos haplotipos que componen su genotipo (Figura 3). Para lograrlo se amplifican en reacciones de PCR cada uno de los haplotipos por separado gracias a la utilización de cebadores alelo-específicos. Los polimorfismos que quedan comprendidos en cada haplotipo se confirman por secuenciación directa en un secuenciador ABI 310 (Applied Biosystems).

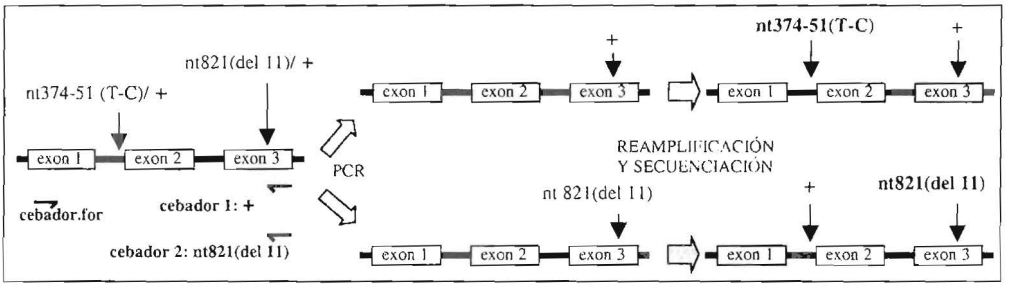


Figura 3. Técnica PASA aplicada a un individuo heterozigoto para dos mutaciones distintas: nt374-51(T-C) y nt821(del 11). Para determinar si ambas mutaciones se encuentran en el mismo o en distinto haplotipo realizamos dos reacciones PCR, ambas con el mismo cebador forward, **cebador.for**, y un cebador reverse diferente en cada una de ellas: uno que solo amplifica el alelo salvaje (+) para la mutación nt821(del 11), **cebador 1**, y otro que solo amplifica el alelo mutado, **cebador 2**. De esta forma se amplifican ambos haplotipos por separado. Para determinar que alelo de la mutación nt374-51(T-C) acompaña a cada uno de los dos haplotipos realizamos una reamplificación sobre el fragmento anterior y secuenciamos el segmento correspondiente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la aplicación de la técnica PCR-SSCP añadimos a las 12 anteriormente descritas 7 mutaciones nuevas: 2 polimorfismos intrónicos (nt747+7(G-A), nt747+11(A-G)); 3 mutaciones silenciosas (nt267(A-G), nt324(C-T), nt387(G-A)) y 2 mutaciones conservadas (D182N, S105C). Para estas dos últimas aunque no afectan al péptido bioactivo, ya que están localizadas en los exones 1 y 2 respectivamente, no es posible de momento determinar con seguridad su efecto sobre la actividad de este factor de crecimiento.

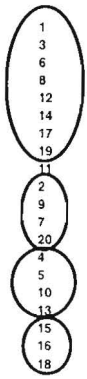


Figura 4. Dendrograma utilizando el algoritmo UPGMA que representa las relaciones existentes entre los diferentes haplotipos descritos.

En la figura 4 puede observarse como se agrupan los diferentes haplotipos en clusters. El haplotipo salvaje (9) aparece junto al 2, que corresponde a la mutación nt821(del11) común a muchas razas europeas, y al haplotipo 7 que es exclusivo de la raza Maine-Anjou. En el cluster superior se incluyen los haplotipos caracterizados por mutaciones que originan un cambio aminoacídico. Los dos clusters situados en la parte inferior de la figura incluyen los haplotipos caracterizados por llevar las mutaciones intrónicas.

En la Tabla 1 resumimos los 20 haplotipos hallados, así como la frecuencia (en %) con que se han hallado en las diferentes razas.

	nt267(A-G)	F94L	S105C	nt324(C-T)	nt374-51(T-C)	nt374-50(G-A)	nt374-16(del 1)	nt387(G-A)	nt414(C-T)	nt419(del7-ins10)	D182N	Q204X	E226X	nt747+7(G-A)	nt747+11(A-G)	nt821(del 11)	E291X	C313Y	Aberdeen Angus	Asturiana de Montaña	Asturiana de Valles	Aubrac	Ayrshire	Blonde d'Aquitaine	Blanc Bleu Belge	Beef Shorthorn	Bazadais	Charolais	Devon	Galloway	Gascon	Hereford	Inra 95	Longhorn	Limousin	Maine-Anjou	Normande	Pathenais	Pirenaica	Rubia Gallega	Salers	South Devon
1		•			*																1	46		4,5				8	30	10			12	30	100			2	44	2		
2															•					10	81	20		1,5	49			1					4,5	20			8	87	25	69		35
3					*														70	40	10	17	40	90	25	100	100	23	40	20	37	40	28	30		27	94		22	16	57	32
4					•	•	•		•										30	46	6	15	50		21			3	20	60	12	45				1				13	34	13
5					•	•	•		•			•												3				61			3		50				0,9					
6					•												•														48											
7													•																				1,1			52	7,2					
8				•	•																							3					1,1			1						
9																				4	2			5								15	1,1					4	2,2	57	13
10					•	•	•		•	•																							1,1			16	0,9	5				
11		•			•											•																										
12			•		•																																	2				
13					•	•	•	•	•														10							10						1				4,8		
14					•						•																						1,1			2						
15	•				•	•	•		•													2																				
16	•				•																			1																		
17				•	•	•	•		•																															2,2		
18					•										•																											7
19					•								•																					10								
20													•			•												10						10								

Tabla 1. Mutaciones del gen de la miostatina ordenadas en los 20 haplotipos encontrados . A la derecha figuran las frecuencias con las que cada haplotipo ha sido hallado en cada una de las razas comprendidas en el estudio.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por CICYT (BIO98-1796), UE (BIO4-CT98-0421)

REFERENCIAS

Capuccio y col. (1998). XXVI Int. Conf. On Animal Genetics. ISAG. Nueva Zelanda.

Grobet y col. (1997). Nature Genetics, 17; 71-74.

Grobet y col. (1998). Mammalian Genome 9: 210:213.

Kambadur y col. (1997). Genome Research 7: 910-915.

Mc Pherron y col. (1997). Nature 387: 83-90.

Miranda y col. (1999). ITEA. Vol. extra Nº 20, tomo I: 288.

Orita y col. (1989). Genomics 5: 874-879.

Smith y col. (1997). Mammalian Genome 8: 742-744.

Sommer y col. (1989). Mayo Clin. Proc. 64: 1361-1372.

Watt y Watt (1992). Molecular Ecology 1: 131-132.

Wu y col. (1989). Proc Natl. Acad. Sci. USA 86: 2757-2760

APLICACIÓN DEL REMUESTREO EN EL ANÁLISIS DE DATOS DE *DNA POOLING*

C. Carleos,* J.A. Baro †, N. Corral,* T. López,* J. Cañón ‡

31 de enero de 2001

Resumen

Se aplican métodos de remuestreo para la obtención de intervalos de confianza y el contraste de hipótesis en la estimación de parámetros de un gen cuantitativo (QTL) cuando los datos provienen de un genotipado de lotes selectos de ADN (*DNA pooling*).

Introducción

Este trabajo es continuación de los estudios sobre la potencia [1] y la precisión de los estimadores [3] en el análisis de ligamiento entre un QTL y un marcador cuando la información sobre genotipos se obtiene mediante genotipado por lotes [5].

En el genotipado por lotes, los datos disponibles son: los fenotipos de todos los animales y las frecuencias alélicas del marcador en grupos de esos animales. Los grupos están formados por animales correlativos en orden fenotípico. Supondremos que se pueden estimar con precisión las frecuencias alélicas [4].

Modelos y estimadores

Se supone que el fenotipo tiene una distribución normal con media determinada por el genotipo respecto a un gen cuantitativo con dos alelos (Q y q); éste se supone completamente ligado ($\theta = 0$) con un marcador de tres o más alelos (M, m, m'). Sea un padre doble heterozigoto (MQ/mq) que se cruza con madres de una población en que el cuantigén y el marcador están en equilibrios de Hardy & Weinberg y de ligamiento; sea t la frecuencia de Q en la población de madres, f la de M, g la de m.

El diseño experimental consiste en una familia de medio-hermanos de padre. Tras ordenar los fenotipos, se forman grupos (p. ej. tres: los de fenotipo mayor, intermedio y menor) y se emplea el genotipado por lotes para estimar las frecuencias de los alelos del marcador en cada grupo.

Se tendrán en cuenta el modelo con el cuantigén aditivo ($\mu_{Qq} = \frac{\mu_{QQ}+\mu_{qq}}{2}$) y el modelo con el cuantigén completamente dominante ($\mu_{Qq} = \mu_{QQ}$).

Máxima verosimilitud

La verosimilitud para el diseño descrito con tres grupos es proporcional a:

$$\prod_x \frac{\Pr[x]^{l_x+c_x+u_x}}{l_x!c_x!u_x!} \cdot \prod_x \{\Phi_x(l)^{l_x}[1-\Phi_x(u)]^{u_x}[\Phi_x(u)-\Phi_x(l)]^{c_x}\} \cdot \sum_x \sum_z \frac{l_x u_z \phi_x(l)\phi_z(u)}{\Phi_x(l)[1-\Phi_z(u)]}$$

*Depto. Estadística, Univ. de Oviedo
†Depto. Ciencias Agroforestales, Univ. de Valladolid
‡Depto. Producción Animal, Univ. Complutense

donde x, z recorren los posibles genotipos; l, c y u son los recuentos de los genotipos dados en los grupos inferior, central y superior; l es el fenotipo mayor del grupo inferior; u es el fenotipo menor del grupo superior; ϕ y Φ son la función de densidad y la de distribución de una normal con la media dada por el genotipo. Para discusiones sobre variantes de la fórmula, ver [3].

Método analógico

Parte de la aproximación

$$\frac{l_M}{l_M + c_M + u_M} \approx t\Phi\left(\frac{l - \mu_{QQ}}{\sigma}\right) + (1-t)\Phi\left(\frac{l - \mu_{Qq}}{\sigma}\right)$$

y similares. Con el modelo de dominancia completa, es posible obtener expresiones explícitas de los estimadores de σ y μ_{QQ} (se demuestra que son estimadores fuertemente consistentes) [3].

Regresión

Pérez-Enciso sugirió [6] la utilización de lotes más pequeños para soslayar las perturbaciones de la estimación de las frecuencias alélicas. Su enfoque es adecuado para lotes muy pequeños (dos, tres, ... individuos). Un procedimiento alternativo (descrito en detalle en [2]) es el siguiente: Para cada fenotipo y,

$$\frac{\Pr[M|y]}{\Pr[m|y]} = \frac{\phi_M(y)}{\phi_m(y)} = e^{\frac{-1}{\sigma^2}[(y-\mu_M)^2-(y-\mu_m)^2]} = e^{\frac{-1}{\sigma^2}(\mu_M-\mu_m)[\mu_M+\mu_m-2y]} = e^{\frac{2\delta(y-\mu)}{\sigma^2}}$$

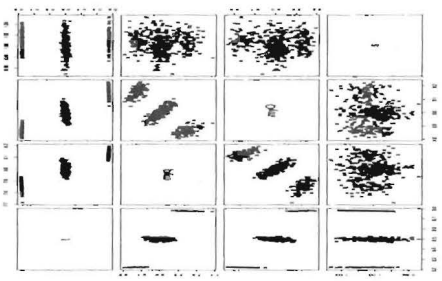
y, tomando logaritmos, se obtiene una relación lineal. Si como valores de la variable independiente se consideran las marcas de clases fenotípicas de los lotes formados, se puede estimar $\mu_Q - \mu_q$ mediante regresión.

Intervalos de confianza y constraste de hipótesis

Se han utilizado métodos de remuestreo debido a la complejidad analítica de las expresiones manejadas. Los tres usados fueron: pruebas de permuta (permutación de fenotipos y genotipos), autosuficiente (*bootstrap*, remuestreo con repetición) y autosuficiente paramétrico (considerando que la distribución de los fenotipos es gaussiana).

Resultados

Comentaremos los resultados para los siguientes valores de los parámetros: familia de $N = 500$ ó 5000 medio-hermanos; efectos gen dominante: $\mu_{qq} = 8$, $\mu_{Qq} = \mu_{QQ} = 9$; efectos gen aditivo: $\mu_{qq} = 8$, $\mu_{Qq} = 8'5$, $\mu_{QQ} = 9$; $t = 0'5$ (luego $\delta = 0'25$); $f = g = 0$.



La estimación de t es muy inestable y se localiza en los extremos (0 ó 1) con mucha frecuencia (50% con el modelo aditivo); sólo tiene forma regular y acampanada cuando se simula un cuantigén con dominancia completa y la expresión de verosimilitud refleja la dominancia completa.

Cuando se utiliza la verosimiltud o función de ajuste (estimadores analógicos) del modelo que no es el empleado para generar los datos simulados (es decir, modedo aditivo de análisis sobre datos simulados con modelo de dominancia completa, o viceversa), la función presenta varios máximos (mínimos) locales, por lo que la estimación según estos métodos requiere precauciones adicionales.

La aplicación de las distintas técnicas de remuestreo condujo a conclusiones similiares, que confirmaron los resultados de [1]. Cabe señalar que bajo la hipótesis nula de igualdad de medias, t desaparece y las funciones muestrales que se optimizan resultan casi planas respecto a t. Esto conduce a estimaciones espurias de t que desestabilizan a los estimadores de las medias $\hat{\mu}_{QQ}$ y $\hat{\mu}_{qq}$.

Como habíamos visto en [3], el método analógico y el de máxima verosimilitud coinciden en todos los casos. En cuanto al método de regresión, es necesario ajustarlo para la situación en que supuestamente debería ser más útil (muchos lotes), pues es muy sensible a la aparición de frecuencias extremas. Así, el error típico de $\hat{\delta}$ sube de 0'0354 (con 10 clases) a 0'0404 (con 100 clases). El aumento del número de clases tampoco había supuesto mayor precisión en el caso de la verosimilitud [3].

Discusión

El estudio confirma los resultados previos [1, 3] con la aplicación de técnicas alternativas. La estimación de t es precisa sólo con N grande (5000) y cuando existe dominancia completa.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto FEDER 1FD97-0042.

Referencias

[1] Baro JA, Carleos C, Corral N, López T, Cañón J, 2001, Power analysis of QTL detection in half-sib families using selective DNA pooling, GSE (aceptado).

[2] Carleos C, 1998, Análisis de datos de genotipado por lotes en familias de medio-hermanos, Trabajo de Investigación de Doctorado, Universidad de Oviedo.

[3] Carleos, Baro, Corral, López, Cañón, Estimación de parámetros de un QTL mediante genotipado de lotes selectos de ADN, 2000, X Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Caldes de Montbui.

[4] Checa ML, Carleos C, Baro JA, Dunner S, Cañón J, 2000, Estimación de frecuencias alélicas en pools de ADN mediante el procesamiento de señales de electroforesis capilar, 2000, X Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Caldes de Montbui.

[5] Darvasi A, Soller M, Selective DNA pooling for determination of linkage between a molecular marker and a quantitative trait locus, 1994, Genetics 138: 1365-1373.

[6] Pérez-Enciso M, 1998, Sequential bulked typing: a rapid approach for detecting QTLs, TAG 96: 551-557.

UTILIZACIÓN DE "POOLES" DE ADN COMO HERRAMIENTA PARA ESTIMAR LAS FRECUENCIAS DE LOS CROMOSOMAS X E Y EN EYACULADOS DE TORO

Maria Luisa Checa, Susana Dunner y Javier Cañón
Laboratorio Genética. Dpto. Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM.

INTRODUCCIÓN

La posibilidad de controlar el sexo de la descendencia constituye uno de los objetivos de mayor interés en producción animal. Algunas de las aplicaciones más inmediatas son, por ejemplo, minimizar la incidencia de ciertas enfermedades genéticas ligadas al sexo o disponer de mayor porcentaje de uno u otro sexo según el tipo de explotación. Aunque la relación de sexos al nacimiento depende de muchos factores, como estado nutricional, edad, época del parto (Clutton-Brock et al, 1986; Hardy ICW, 1997; Krackow S, 1995), o el momento de inseminación artificial de la ovulación (Rorie RW, 1999; Gutierrez-Adan A et al., 1999; Guerrero R, 1974; Harlap S, 1979), parece evidente que el control del sexo de la descendencia puede llevarse a cabo, en una primera instancia, controlando el porcentaje de cromosomas X e Y de un eyaculado. Una de las estrategias más utilizadas, como la que se basa en la citometría de flujo, consiste en manipular la composición de los eyaculados en relación con la concentración de cromosomas X o Y. Estas técnicas aunque todavía muy costosas y lentas parece que tienen un claro futuro. Otras estrategias, dentro de las que se incluiría la que presentamos en este trabajo, se han basado en la aparente gran variabilidad en concentración de cromosomas sexuales que puede observarse entre eyaculados dependiendo de una serie de factores no muy bien identificados. Algunos trabajos previos presentaban una relación de cromosomas sexuales con intervalos relativamente próximos a lo que sería una relación de 1:1. Así, por ejemplo, Nalbandov (1964) encontraron rangos de variación (porcentaje de machos al nacimiento) entre el 48,6 y el 51,8 y, en la especie humana, Lobel et al. (1993) encontraron un rango de variación entre el 41,9 y el 56,7. Si embargo, Chandler et al. (1998) presentaron unos resultados con una variabilidad en el porcentaje de cromosomas Y mucho mayor, de tal manera que en el 20 % de los eyaculados de un toro el porcentaje de cromosomas Y estaba fuera del rango 24 %- 84 %. En nuestro trabajo se pone a punto una técnica que permite estimar el porcentaje de ambos cromosomas sexuales de que es portador un eyaculado y se aplica a diferentes sementales con el fin de conocer si existe una variabilidad suficiente en la composición de cromosomas sexuales como para garantizar la rentabilidad de estos análisis. Hay que tener en cuenta que el coste de detección de un eyaculado de interés ganadero se repercutiría entre un elevado número de pajuelas que pueden ser obtenidos de cada eyaculado (400-600) lo que podría hacer rentable la distribución de pajuelas en las que la probabilidad de obtener uno u otro sexo fuera muy elevada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico

Semen: Se recogieron un total de 204 muestras pertenecientes a 42 machos diferentes (22 toros Holstein y 20 Asturiana del Valle). De 12 de ellos se recogieron 10 eyaculados por toro que eran el resultado de la mezcla de dos saltos consecutivos, mientras que el resto de muestras provenían de un solo salto con el fin de minimizar la pérdida de extremos. En el caso de 24 toros se analizaron dos saltos por toro recogidos en días consecutivos y en 9 toros se analizaron cuatro saltos recogidos cada par con una diferencia de entre 7 y 9 días.

Las muestras se diluyeron en una solución tamponada para su conservación hasta el momento de la extracción.

Cuantificación del ADN de semen y sangre: Extraído el ADN mediante un procedimiento estándar, estimamos su concentración en las muestras mediante

fluorimetría (TD 360 Mini Fluorometer, Turner Designs) hasta lograr una concentración final de ADN de 2 ng/µl.

PCR: Como marcador utilizamos el gen de la amelogenina que se encuentra presente en ambos cromosomas, X e Y, aunque el segundo tiene una deleción de 63 pb. Amplificamos en una única reacción el fragmento de ambos cromosomas, con una sola pareja de primers, uno de los cuales se marcó con el fluorocromo HEX. A continuación el producto de la PCR se sometió a electroforesis capilar en un secuenciador automático ABI 310 dando lugar a un pico de 217 pb perteneciente a Y y 280 pb a X cuyas áreas son reflejo del número de copias del fragmento amplificado. Elaboramos 'pooles' con ADN procedente de machos y hembras, en los que la composición de cromosomas sexuales era conocida y tuvimos en cuenta dos artefactos que pueden intervenir en el desarrollo de la PCR, como son la fase plateau y la amplificación diferencial.

En la tabla 1 aparece el análisis de regresión que nos permitió obtener los parámetros de la recta y predecir el porcentaje de cromosomas sexuales en un 'pool' utilizando la salida proporcionada por el secuenciador como variable independiente.

Tabla 1: Análisis de regresión de los resultados obtenidos en "pooles" de ADN de machos y hembras.

F. de V.	G.l.	Sumas de Cuadrados	Cuadrados Medios	Valor de F	Prob>F
Modelo	1	7065.04603	7065.04603	306.435	0.0001
Error	51	1175.83473	23.05558		
C Total	52	8240.88075		R-cuadrado	0.8573

Variable	g.l.	Estimación parámetro	Error Estándar	Prob > |T|
Ordenada en el origen	1	23.277094	2.69874116	0.0001
Coef. regresión	1	0.803573	0.04590454	0.0001

Análisis estadístico: Se llevó a cabo un primer análisis de medidas repetidas con el fin de contrastar la hipótesis de diferencias entre los dos saltos que realiza un semental el día que se le extrae semen. Un segundo análisis se llevó a cabo para analizar los efectos de semental y repetición (efecto que incluyó la variabilidad entre análisis que pueda ser consecuencia tanto del efecto de extracción de ADN, como el efecto de la PCR), como efectos principales, y el eyaculado como efecto jerarquizado al semental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones óptimas de amplificación, en las que se minimiza el efecto distorsionador de la fase plateau y la amplificación diferencial, se obtuvieron trabajando con PCRs de 25 ciclos, 25 µl de volumen final y 6 ng de ADN de partida. Existe un incremento lineal (y = 23,8 + 0,8036X; R=0,93) del área del pico correspondiente al cromosoma X a medida que incrementamos la representación de este cromosoma dentro del "pool".

El porcentaje medio de cromosomas X por eyaculado fue de 51,5±2,99. Este resultado muestra la baja frecuencia de eyaculados en los que el porcentaje de cromosomas X o Y se situaría en los extremos de la distribución, por ejemplo la posibilidad de encontrar un eyaculado en el que el porcentaje de cromosomas X sea superior al 80% o inferior al 20% es casi cero porque representa una posición alejada en más de 9 desviaciones típicas de la media.

El análisis de medidas repetidas que se utilizó para contrastar las diferencias entre los dos saltos que realiza un toro cada día indicó, que no hay diferencias

significativas entre saltos y, la ausencia de interacción entre los efectos del toro y de la repetición, con el salto.
Tampoco se encontraron diferencias entre los eyaculados de un semental. Los factores que mostraron una significativa influencia sobre el contenido en cromosomas X fueron el toro y la repetición, sin que exista interacción entre ambos factores (Tabla 2). El factor repetición constituye la mayor fuente de variación, explicando aproximadamente un 25% de la variabilidad en el porcentaje de X, mientras que el efecto toro es responsable del 12 % de la variabilidad total.

Tabla 2.- Resultados del análisis de varianza

Fuentes de Variación	g.l.	Sumas Cuadrados	Cuadrado Medio	Valor F	Pr > F
TORO	34	611.42	17.98	2.18	0.0027
Repetición	4	219.21	54.80	6.63	0.0001
TORO*Repetición	22	186.35	8.47	1.03	0.4464
EYACulado(TORO)	56	304.03	5.42	0.66	0.9496
Error	75	619.74	8.26		

R-Cuadrado	C.V.	Porcentaje de X
0.681	5.58	51.52

Esperanzas de los cuadrados medios

REPETICION	Var(Error) + 3.8394 Var(TORO*REPETICION) + 17.688 Var(REPETICION)
TORO	Var(Error) + 2.8047 Var(TORO*REPETICION) + 4.5674 Var(TORO)
TORO*REPETICION	Var(Error) + 2.5714 Var(TORO*REPETICION)

De acuerdo con estos resultados, la utilización de esta herramienta sólo estaría justificada en aquellos casos en los que existieran factores externos identificados y manipulables que permitieran obtener eyaculados con porcentajes de X o Y extremos. Nuestros resultados estarían en contradicción con los encontrados por Chandler et al. (1998) quienes, desde nuestro punto de vista, utilizaron métodos de trabajo con importantes fuentes de error, como la cuantificación del ADN mediante espectrofotometría, Breen et al. (1999) en su trabajo con "pooles" de ADN y microsatélites estimaron un coeficiente de variación atribuible al espectofotómetro del 28,3% mientras que con fluorímetro fue del 1,23 %, y la ausencia de contrastes internos en la PCR al utilizar un marcador presente sólo en el cromosoma Y.
Aunque tenemos que finalizar todavía el análisis de un centenar de eyaculados provenientes de 10 toros, no creemos que los resultados modifiquen significativamente las conclusiones expuestas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT y Fondos FEDER a través de los proyectos: 1FD97-0042 y 2FD97-1191.
A Lupicinio Prieto del CENSYRA de Somió (SERIDA) por proporcionarnos las muestras de semen con las que se ha llevado a cabo este trabajo.

REFERENCIAS

-Breen, G.; P. Sham, T. Li, D.A. Collier and D. St. Clair (1999). *Molecular and Cellular Probes* **13**:359-365.
-Chandler, J.E.; H.C. Steinholt-Chenevert, R.W. Adkinson and E.B. Moser (1998). *J Dairy Sci* **81**:1855-1867.
-Clutton-Brock, T.H.; G.R. Lason (1986).*Q Rev Biol* **61**:339-374.
-Guerrero, R. (1974). *New Eng J Med* **291**:1956-1959.
-Gutierrez-Adan, A.; S. Perez-Garnelo, J. Granados, J.J. Garde, M. Perez-Guzman, B. Pintado, J. De la Fuente (1999). *Zygote* **7**:37-43.
-Hardy, I.C.W. (1997). *Appl Anim Behav Sci* **51**:217-241.
-Harlap, S. (1979). *New Eng J Med* **300**:1445-1448.
-Krackow, S. (1995). *Biol Rev* **70**:225-241.
-Lobel, S. M.; A.J. Pomponio and G.L. Mutter (1993). *Fert. Steril.* **59**:387-392.
-Nalbandov, A.V. (1964). Reproductive Physiology (Pages 3-11). W. H. Freeman and Co., San Francisco, CA.
-Rorie, R.W.(1999). *Theriogenology* **52**:1273-1280.

LOCALIZACION CROMOSOMICA Y CARACTERIZACION DEL POLIMORFISMO DEL GEN DE LA 2,4-DIENOIL-COA REDUCTASA (DECR) PORCINA

A. Clop [1], M. Pérez-Enciso [2] A. Cercós [1], A. Tomás [1], L. Varona [2], J.L. Noguera [2], A. Sánchez [1] y M. Amills [1]
[1] Unitat de Genètica i Millora Animals, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193. [2] Area de Producció Animal, Centre UdL-IRTA, Rovira Roure 177, Lleida 25198

INTRODUCCION

El análisis, mediante la utilización de microsatélites y mapeo de ligamiento, de la F_2 de un cruzamiento de Landrace e Ibérico reveló la existencia de un QTL en el cromosoma 4 porcino con efectos significativos sobre el porcentaje de ácidos linoleico y oleico en el tejido adiposo subcutáneo, así como sobre el engrasamiento dorsal (Pérez-Enciso et al. 2000). El genotipo Ibérico se hallaba asociado a un mayor engrasamiento de la canal, un menor crecimiento, un menor porcentaje de ácido linoleico y un mayor porcentaje de ácido oleico, respecto del genotipo Landrace (Pérez-Enciso et al. 2000). La posición de este QTL coincide con el descrito por Andersson y colaboradores (1994), en el que se describían asociaciones entre una región del cromosoma 4 porcino y la velocidad de crecimiento, el engrasamiento y la longitud del intestino en un cruce de Large White y jabalí.

El análisis de las correspondencias cromosómicas entre el intervalo del cromosoma 4 porcino que contiene el QTL (71 a 86 cM) y la región genómica homóloga en humano, que corresponde al brazo largo del cromosoma 8 (Goureau et al. 1996), reveló la existencia de un posible gen candidato que explicaría las variaciones observadas respecto al contenido en ácidos grasos oleico y linoleico. Dicho gen codifica la 2,4-dienoil-CoA reductasa (DECR), que es un enzima auxiliar de la β-oxidación de los ácidos grasos. Más concretamente, dicho enzima participa en el metabolismo de los ácidos grasos insaturados con dobles enlaces en posiciones pares e impares, catalizando la reducción de 2,4-dienoil-CoA en trans-3-enoil-CoA (Kunau y Dommes 1978). La 2,4-dienoil-CoA reductasa posee una estructura homotetramérica, se localiza a nivel mitocondrial y se transcribe fundamentalmente en el hígado, riñón, corazón y páncreas (Koivuranta et al. 1994). En humano, el gen DECR tienen un tamaño de 30 Kb y la unidad de transcripción incluye 10 exones y 9 intrones de tamaño variable (Helander et al. 1997). La deficiencia del enzima DECR en humano causa un síndrome fatal caracterizado por la existencia de hiperlisinemia, hipocarnitinemia y la presencia de 2-trans, 4 cis-decadienoilcarnitina en la orina debido a la oxidación incompleta del ácido linoleico (Roe et al. 1990). Los objetivos del presente trabajo consisten en (1) determinar la localización cromosómica del gen DECR porcino y observar si coincide con el intervalo del cromosoma 4 en el que se halla el QTL antes mencionado, y (2) en caso afirmativo, caracterizar el polimorfismo de este gen para analizar su posible influencia sobre el contenido en ácido oleico y linoleico.

MATERIAL Y METODOS

Amplificación del gen DECR porcino: El diseño de *primers* específicos para el segundo exón del gen DECR porcino se realizó mediante el alineamiento de las secuencias ortólogas correspondientes a humano (número de acceso *Genbank*: U94981) y rata (número de acceso *Genbank*: D00569). La identificación de regiones conservadas entre ambas especies posibilitó la construcción de dos *primers* (FW1: 5'-

AGT TTT TCA GTT ATG GGA CAA AAA-3' y REV1: 5'-CAC TGA GCA CCT AGG CTG GA-3') que amplificaban específicamente 2 pares de bases (pb) del intrón 1 y 188 pb del segundo exón del gen DECR porcino. Las condiciones de la reacción de PCR fueron 1.5 mM $MgCl_2$, 100 µM dNTPs, 0.5 µM de cada *primer*, 200 ng de ADN genómico y 1.25 U de Taq ADN polimerasa en un volumen final de 50 µl. El perfil térmico incluía una etapa de desnaturalización previa del ADN (94º C-1.5 min.) y 94º C-1.5 min., 58º C-2 in, 72º C-2.5 min. durante 35 ciclos. Finalmente se realizó una etapa de extensión final de 72º C-20 min.

Secuenciación del producto amplificado: El producto amplificado se secuenció directamente en 4 individuos mediante el *kit* de secuenciación *ABI PRISM Cycle sequencing kit* (Perkin Elmer Biosystems) para confirmar que realmente correspondía al segundo exón del gen DECR porcino. Las reacciones de secuenciación fueron analizadas en un aparato de electroforesis capilar *ABI PRISM 310* (Perkin Elmer Biosystems). Para obtener una secuencia de mayor calidad, el producto amplificado fue clonado en un plásmido pCR2.1-TOPO (Invitrogen) y secuenciado en ambas direcciones.

Digestión del producto amplificado con los enzimas de restricción MaeI y BfaI: La digestión de 11 µl de producto amplificado con 10 U del enzima *MaeI* (Boehringer-Mannheim) se realizó a 45º C-12 horas. Alternativamente, se empleó el enzima de restricción *Bfa*I (New England Biolabs) que es un isoesquizómero de *Mae*I (22.5 U de enzima, 37º C-12 horas). Los productos de la digestión se analizaron en geles de alta resolución al 2%.

Localización cromosómica del gen DECR porcino: El mapeo del gen DECR porcino se realizó mediante el panel de células somáticas híbridas irradiadas *INRA-Minnesota Porcine Radiation Hybrid (ImpRH)* (Yerle et al. 1998). Para distinguir el gen DECR porcino de su ortólogo en hámster, se diseñaron *primers* que amplificaban específicamente la secuencia porcina. Para ello, se alinearon las secuencias DECR del cerdo, el ratón y la rata y se identificaron dos regiones que presentaban una notable divergencia entre el cerdo y roedores. La secuencia de los *primers* fue FW2: 5'-TTG TAT CAA AGC ACT GAA GCT TTT-3' y REV2: 5'-TGG ACA GAT GAG TTG TCA TTC TT-3'. El volumen de reacción fue de 15 µl, la concentración de magnesio 2 mM y la cantidad de DNA 25 ng. El perfil térmico comprendía una etapa de desnaturalización previa (94º C-2 min.) y 94º C-1 min., 63º C-1 min., 72º C-1 min. durante 32 ciclos. Finalmente, se realizó una etapa de extensión de 72ºC -5 min. Los productos amplificados poseían un tamaño de 148 pb y se analizaron en geles de agarosa al 2%. Las PCRs del panel de células somáticas híbridas irradiadas se realizaron por duplicado. Los resultados fueron enviados a la base de datos *ImpRH* (http://imprh.toulouse.inra.fr) y analizados *IMpRH mapping tool* (Milan et al. 2000). El mapa de ligamiento del gen DECR se realizó mediante la opción *build* del programa CRI-MAP versión 2.4.

RESULTADOS Y DISCUSION

La secuenciación directa del producto amplificado correspondiente al exón 2 del gen DECR en dos individuos de raza Landrace y dos individuos de raza Ibérica permitió la identificación de un polimorfismo de restricción *Mae*I en la posición 114 del producto amplificado debido a una sustitución de una guanina por una citosina (alelo 1: 190 pb, alelo 2: 114-76 pb). La existencia de dicho polimorfismo se confirmó mediante la secuenciación de producto clonado en siete individuos. La secuencia consenso obtenida mediante el alineamiento de siete clones independientes fue enviada a la base de datos de *Genbank* (número de acceso AF335499). Dicha secuencia posee una identidad del

84% con su ortóloga humana. Este polimorfismo de restricción esta asociado a la sustitución de un residuo valina (alelo 1) por un residuo leucina (alelo 2) en la posición 61 de la proteína madura.
El estudio de la segregación del polimorfismo de restricción *Mae*I en un pedigrí de 3 generaciones producido a partir de un cruzamiento de Ibérico con Landrace (Pérez-Enciso et al. 2000) demostró la existencia de una herencia autosómica mendeliana para dicho polimorfismo. La frecuencia del polimorfismo *Mae*I en cuatro razas de cerdos se indica en la Tabla 1

Tabla 1. Frecuencias alélicas del polimorfismo de restricción *Mae*I en distintas razas porcinas

Raza	n	Alelo 1	Alelo 2
Large White	20	0.10	0.90
Landrace	110	0.74	0.26
Pietrain	20	0.55	0.45
Ibérico	49	0.34	0.66

El análisis de los datos obtenidos mediante el panel de células somáticas híbridas irradiadas demostró que el gen DECR porcino está posicionado a 13 centiRay (cR) del microsatélite SW1003, es decir muy cerca del centrómero del cromosoma 4. Los resultados del análisis de ligamiento mostraron que la posición más probable del DECR se sitúa entre los microsatélites SW839 y S0214, que es compatible con los datos obtenidos a partir del panel de células somáticas híbridas. Es interesante constatar que esta región está dentro del intervalo de confianza para el QTL detectado en el cromosoma 4. Sin embargo, un análisis preliminar donde se incluyó el polimorfismo del DECR como efecto fijo, no mostró ningún resultado significativo.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por la CICYT (AGF99-0284-CO2-02).

BIBLIOGRAFIA

Goureau ,A., Yerle M., Schmitz A., Riquet J., Milan D., Pinton P., Frelat G. and Gellin J. 1996. Genomics 36: 252-262

Helander, H. M., K.T. Koivuranta, N. Horelli-Koitunen, J.J. Palvimo, A. Palotie, y J.K. Hiltunen. 1997. Genomics 46: 112-119.

Koivuranta K.T., E.H. Hakkola, y J.K. Hiltunen. 1994. Biochem J. 304:787-92.

Kunau, W.H., y P. Dommes. 1978. Eur. J. Biochem. 91: 533-544.

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., Gellin J. 2000. Bioinformatics 16:558-9.

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. Sánchez. 2000. J. Anim. Sci. 78: 2525-2531.

Roe, C., D.S. Millington, D.L. Norwood, N. Kodo, H. Sprecher, B.S. Mohammed, M. Nada, H. Schulz, y R. Mc Vie. 1990. J. Clin. Invest. 85: 1703-1707.

Yerle M., Pinton P., Robic A., Alfonso A., Palvadeau Y., Delcros C., Hawken R., Alexander L., Beattie C., Schook L., Milan D., Gellin J. 1998. Cytogenet Cell Genet. 82:182-8.

ESTEAROIL COENZIMA A DESATURASA CAPRINA: SECUENCIA DEL ADNc, ESTRUCTURA DEL GEN Y POLIMORFISMO

M.H. Yahyaoui, A. Sánchez y J.M. Folch
Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Unitat Genètica i Millora, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra

INTRODUCCION

La estearoil coenzima A desaturasa (SCD) es un enzima que interviene en la biosíntesis de los ácidos grasos monoinsaturados, regulando el paso de los ácidos palmítico (16:0) y esteárico (18:0) a palmitoleico (16:1) y oleico (18:1), respectivamente. La desaturación en *cis* tiene lugar entre los átomos de carbono 9 y 10. La actividad del SCD está reflejada no solamente en la composición de los triglicéridos, sino también en la de los fosfolípidos de las membranas celulares. El ratio esteárico:oleico es importante en la fluidez de las membranas y en las interacciones celulares y su alteración está relacionada con varias enfermedades humanas (Ntambi, 1999).

Dos genes homólogos (*SCD1* y *SCD2*) en roedores (Ntambi *et al.* 1988; Kaestener *et al.* 1989; Mihara *et al.* 1990) y un solo gen en ovino (Ward *et al.* 1998) y humano (Zhang *et al.* 1999) han sido clonados y caracterizados. También se han determinado secuencias parciales del ADN copia en bovino y porcino (Nº de acceso GenBank: AF188710 y Z97186). Recientemente, se ha descrito la presencia de un tercer gen en ratón (Parimoo *et al.* 1999). El gen de la *SCD* se expresa en diferentes tejidos, como el adiposo, el hígado, el cerebro, el riñón, la piel y la glándula mamaria en los animales lactantes. En roedores, y en condiciones normales, la expresión del gen *SCD1* tiene lugar en el tejido adiposo, mientras que el gen *SCD2* se expresa principalmente en el cerebro.

En los últimos años, se ha determinado que el consumo de altos niveles de grasas saturadas provoca un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Kinsella *et al.* 1990). Por lo tanto, el incremento de los ácidos grasos insaturados en la leche constituye un importante objetivo de selección, debido a que la grasa de la leche es sobretodo saturada. Sin embargo, y debido a las correlaciones genéticas, la selección a favor de este objetivo va en detrimento de otros caracteres de interés productivo (Gibson, 1991; Palmquist *et al.* 1993). Una alternativa es el estudio de genes candidatos implicados en la determinación de este carácter, y en este contexto, el gen que codifica para la SCD constituye un buen candidato. Los objetivos del presente trabajo han sido la caracterización molecular del gen de la SCD (secuencia del ADNc, estructura del gen) en la especie caprina y la detección de polimorfismo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron un total de 99 muestras de ADN genómico pertenecientes a cuatro razas caprinas españolas (Canaria, Malagueña, Murciano-Granadina y

Payoya) y a una raza francesa (Saanen). El ADN se extrajo de muestras de sangre usando protocolos estándar (Ausubel *et al* 1987). El ARN total se aisló de una muestra de glándula mamaria de una cabra Murciano-Granadina usando Trizol, según las indicaciones de la casa comercial (Life Technologies). La reacción de la RT-PCR se hizo en un volumen total de 20 µl durante una hora a 37ºC, conteniendo 1 µg de ARN, 40 pmol de cebador y 200 U de transcriptasa reversa. Durante la RT-PCR se utilizaron dos cebadores, un oligo-dT_{30} y un cebador específico diseñado sobre el exón 5 del gen SCD ovino (Ward *et al.* 1998). En la reacción de PCR dos grupos de cebadores fueron utilizados, E1F y E5R, en la amplificación de la región entre los exones 1 y 5, y E4F y 3NCR, para amplificar los exones del 4 al 6, estando éste último a 22 pb de la cola poliA del ADNc ovino. Las bandas del ADNc fueron aisladas a partir de un gel de agarosa y posteriormente fueron clonadas y secuenciadas en ambas cadenas. Las secuencias fueron analizadas mediante los programas *ClustalV* y *Multialin*.

Para determinar la estructura del gen se amplificaron los intrones utilizando cebadores complementarios a los exones flanqueantes deducidos a partir de la estructura del gen *SCD* bovino (J.F. Medrano, comunicación personal). Las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen total de 50 µl con 100-250 ng de ADN y 2.5 unidades de *Long Expand PCR*. Los fragmentos amplificados fueron purificados y secuenciados. El análisis de los polimorfismos se realizó mediante la amplificación de un fragmento de 447 pb que contiene el exón 5 completo, utilizando cebadores en las regiones intronicas. Los productos de PCR de varios animales de diferentes razas fueron clonados y secuenciados. El genotipado se realizó mediante un protocolo rápido utilizando endonucleasa *Rsa*I, donde 10 µl del producto de PCR fueron digeridos con 10 unidades del enzima a 37ºC durante toda la noche. Los fragmentos de restricción fueron separados por electroforesis en un gel de agarosa al 2%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuencia del ADNc de la SCD caprina (1906 pb, Nº acceso GenBank: AF339909) contiene una región codificante de 1080 pb (incluyendo el codón de terminación de la traducción) que se traduce en una proteína de 359 aminoácidos, una región 5' no codificante (172 pb) y una región 3' no codificante (654 pb). La comparación de las secuencias de ADNc de la SCD en diferentes especies muestra que las regiones codificantes están bastante conservadas en los rumiantes. Los porcentajes de similitud de estas regiones son del 98% entre caprinos y ovinos, y del 98% entre caprinos y bovinos. El grado de similitud es menor con las especies porcina (89%), humana (87%) y con los roedores (82% tanto para *SCD*1 que *SCD*2). La comparación de las secuencias proteicas muestra que las substituciones están concentradas en la región N terminal de la proteína. Los ocho residuos de histidina esenciales para la actividad catalítica del enzima (Shanklin *et al.* 1994) están conservados.

En ovino, y probablemente en las otras especies de rumiantes, la actividad enzimática de la SCD resulta de la transcripción de un solo gen cuya expresión se muestra principalmente en el tejido adiposo, en el hígado y en la glándula mamaria. A diferencia de lo que ocurre en humano y en ratón, las regiones 3' no codificantes de los ARNm de caprinos y de ovinos son cortas y carecen de las señales de poliadenilación así como de los motivos típicos de desestabilización (AUUUA) de los

mensajeros (Padget *et al.* 1986; Jackson 1993). Estas diferencias podrían estar relacionadas con las características del metabolismo de grasa en rumiantes (alimentos pobres en grasa, biohydrogenación de los ácidos grasos en el rumen).

La estructura del gen de SCD caprino es muy similar a la que presentan roedores y humanos y consiste en 5 exones y 6 intrones de un total de 12 Kb. Toda la región 3' no codificante está contenida en el exón 6. El inicio y final de los intrones presentan la secuencia consenso GT / AT.

Una evidencia preliminar de la existencia de polimorfismos se obtuvo mediante la comparación de secuencias de ADNc y de ADN genómico. Así, se observaron tres sustituciones nucleotídicas, dos en el exón 5 (posiciones 904 y 931) que no generan cambios aminoacídicos en la proteína y una en la región 3' no codificante (posición 1674). La mutación en la posición 931 (G/T) provoca la desaparición de la diana de reconocimiento de la endonucleasa *Rsa*I. Por lo tanto, la digestión del fragmento que contiene el exón 5 (447 pb) del alelo G genera tres fragmentos de 98, 111 y 238 pb, mientras que para el alelo T sólo se generan dos fragmentos de 98 y 349 pb. Se analizaron para este polimorfismo un total de 99 animales: 29 Saanen, 27 Canaria, 24 Murciano-Granadina, 12 Malagueña y 7 Payoya. El polimorfismo no se detectó en las razas Canaria, Payoya y Malagueña, pero el número de animales analizados de éstas dos últimas fue limitado por lo que estos resultados deben considerarse como preliminares. El alelo G se presenta con unas frecuencias del 8 % y del 31 % en las razas Murciano-Granadina y Saanen.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D.,Seidmen, G.G., Smith, J.A. & Struhl K. (Ed.) 1987 Current Protocols in Molecular Biology Green publishing Associates and Wiley-Interscience.

Gibson, J.B. 1991 Journal of Dairy Science 74 3258-3266.

Jackson R.J. (1993) Cell 74, 9-14.

Kaestner, K.H., Ntambi, J.M., Kelly Jr, T.J. & Lane M.D. (1989) Journal of Biological Chemistry 264, 14755-14761.

Kinsella, J.E., Lokesh, B. & Stone R.A. (1990) American Journal of Clinical Nutrition 52, 1-28.

Mihara, K. (1990). Journal of Biochemistry 108, 1022-29.

Ntambi, J.M. (1999) Journal of Lipid Research 40, 1549-58.

Ntambi, J.M., Buhrow, S.A., Kaestner, K.H., Christy, R.J., Sibley, E., Kelly Jr, T.J. & Lane M.D. (1988) Journal of Biological Chemistry 263, 17291-300.

Padgett, R.A., Grabowski, P.J., Konarska, M, Seiler, S. & Sharp P.A. (1986) Annual Reviews of Biochemistry 55, 1119-50.

Palmquist, D.L., Beaulieu, A.A., & Barbano DM. 1993 Journal of Dairy Science 76 1753-1771.

Parimoo, S., Zheng, Y., Eilersten, K., Ge, L., Prouty S., Sundberg, J. & Stenn K. (1999) Journal of Investigative Dermatology Symposium Process 4, 320-22.

Shanklin, J., Whittle, E. & Fox B.G. (1994) Biochemistry 33, 12787-94.

Ward, R.J., Travers, M.T., Richards, S.E., Vernon, R.G., Salter, A.M., Buttery, P.J. & Barber M.C. (1998) Biochimica et Biophysica Acta 1391, 145-56.

Zhang, L., Ge, L., Parimoo, S., Stenn, K. & Prouty S. (1999) Biochemical Journal 340, 255-64.

ESTUDIO DE LAS RELACIONES DE LIGAMIENTO ENTRE MICROSATÉLITES DEL CROMOSOMA 6 EN EL GANADO OVINO DE RAZA CHURRA

Diez-Tascón C., Bayón Y., Arranz, J.J. y San Primitivo F.
Dpto. Producción Animal I, Universidad de León

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años se ha logrado un importante avance en la elaboración de los mapas genéticos de las especies domésticas. En particular, los mapas de ligamiento, obtenidos mediante estudios de segregación familiar, han experimentado un importante impulso con la aparición de los marcadores de tipo microsatélite. La principal característica de estos marcadores es su elevado polimorfismo, siendo utilizados como loci "ancla" de referencia en la integración de los mapas físicos y de ligamiento. En cuanto al mapa de ligamiento ovino, el cromosoma objeto de mayor atención ha sido el 6, debido a que en él se ha localizado la mutación *Fec*B, responsable del fenotipo Booroola, además de los genes de las caseínas. Este cromosoma representa aproximadamente el 4,31% del genoma ovino (MATEJKA & CRIBIU, 1987) y presenta homología con el 6 bovino, el 4 humano, el 3 y el 5 murinos y el 8 porcino (LORD et al., 1996).

Los datos de ligamiento publicados en esta especie (CRAWFORD et al., 1995; MADDOX et al., 1996; de GORTARI et al., 1998), realizan estimaciones promedio de la frecuencia de recombinación, a partir de varias familias en las que intervienen diferentes razas ovinas. Sin embargo, la frecuencia de recombinación se encuentra influida por factores que, en ocasiones, no se encuentran totalmente contrastados, tales como: sexo, edad, familia, población, etc. (OTT, 1991). En nuestro estudio se analizan los datos de ligamiento para 12 microsatélites del cromosoma 6, a partir de la descendencia correspondiente a 10 sementales de raza Churra, con el objetivo de obtener un mapa de ligamiento conjunto y, por otra parte, posibilitar un análisis individual para cada familia que permita detectar posibles diferencias en la frecuencia de recombinación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó sobre familias de ovejas medio-hermanas, descendientes de 10 sementales pertenecientes al núcleo de selección de la raza Churra. El número de hijas analizadas para cada familia se incluye en la Tabla 1, ascendiendo a un total de 879 ovejas. En la misma tabla se indican las 12 secuencias de tipo microsatélite del cromosoma 6, elegidas a partir de los mapas de ligamiento publicados (MADDOX et al., 1996; de GORTARI et al., 1998).

El análisis de cada microsatélite se realizó utilizando un marcado radiactivo incorporando [^{35}S]dATPαS, o bien introduciendo un oligonucleótido marcado con un fluorocromo (Cy5). Una vez realizada la electroforesis, y dependiendo de la técnica utilizada en cada caso particular, los genotipos individuales fueron identificados mediante visualización directa de una película de autorradiografía o mediante un equipo de secuenciación automática (ALFexpress®DNA Sequencer, Pharmacia Biotech).

El estudio de ligamiento se realizó mediante el programa CRI-MAP (LANDER & GREEN, 1987), que utiliza la función de Kosambi para calcular, a partir de las frecuencias de recombinación, la distancia en centimorgans entre los marcadores.

De forma simultánea se obtuvieron los haplotipos más probables de los sementales. Se utilizó el test de heterogeneidad de Morton (OTT, 1991) con el objetivo de detectar posibles errores en la identificación genotípica, procediéndose a una comprobación de los procesos de recombinación dobles y múltiples, mediante repetición de su análisis en el laboratorio. Con objeto de detectar posibles variaciones en la frecuencia de recombinación entre las distintas familias, se aplicó el test de Morton, basado en la comparación de los "lod scores" correspondientes a las frecuencias de recombinación, calculados utilizando la opción TWOPOINT del programa CRI-MAP.

Tabla 1. Individuos y marcadores analizados. Número de meiosis informativas.

Semental	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
N° hijas	52	41	86	147	46	115	118	69	138	67	
Marcador	Marcadores heterocigóticos en cada semental										N° meiosis
OarCP125		•	•		•	•	•	•	•	•	558
INRA133	•	•	•					•	•	•	329
McM53	•	•	•		•	•	•	•	•	•	534
OarAE101		•	•		•		•	•		•	336
BM143		•	•	•	•	•	•	•	•	•	625
BMS360	•		•	•	•		•	•	•	•	583
BM4621	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	740
BM4311	•	•		•		•		•	•		438
CSRD293	•	•	•			•	•	•	•		527
OarJMP8		•		•		•				•	293
McM214	•	•	•	•			•	•	•	•	565
OarJMP12	•		•	•				•	•	•	447
N° meiosis	40-49	28-40	58-82	101-130	34-44	80-107	79-99	45-60	91-115	40-62	

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de procesos meioticos que resultaron informativos para cada marcador se presenta en la Tabla 1, con un rango comprendido entre 293 (OarJMP8) y 740 meiosis (BM4621), y una media de 498 meiosis por marcador. El mapa de ligamiento del cromosoma 6 ovino, obtenido para el conjunto de las familias estudiadas, presentó una extensión total de 139 cM (Kosambi) (Figura 1). De acuerdo con el mapa físico, OarCP125 es el marcador más centromérico y OarJMP12 el más telomérico.

Las distancias genéticas estimadas presentan un alto grado de coincidencia con las obtenidos por otros autores, con ligeras diferencias. Es necesario indicar que en nuestro trabajo se analizan familias de medio-hermanas y que el mapa corresponde exclusivamente a meiosis observadas en los machos, mientras que en otros casos se ha utilizado información de ambos sexos, elaborando un mapa promedio (MADDOX et al., 1996; de GORTARI et al., 1998). En este sentido, algunos estudios han encontrado diferencias en la frecuencia de recombinación entre ambos sexos en diferentes especies. En el caso concreto del ganado ovino, los resultados no son totalmente coincidentes. Así, mientras CRAWFORD et al. (1995) encuentran

una mayor frecuencia de recombinación en machos que en hembras, para un 67% de los intervalos examinados a lo largo de todo el genoma, LORD et al. (1996), al estudiar el cromosoma 6 ovino, sólo detectan diferencias significativas entre sexos, para un intervalo de los analizados.

El mapa de ligamiento obtenido en nuestro estudio puede considerarse representativo de los procesos meitóticos del cromosoma 6 en los machos de raza Churra. Su fiabilidad puede considerarse elevada por las razones que se indican seguidamente. En primer lugar, el número de meiosis informativas por marcador (media: 498, rango: 293-740) fue muy superior al aportado por otros autores, como CRAWFORD et al. (1995) (media: 140, rango: 18-209) o de GORTARI et al. 1998 (media: 197, rango: 12-624). Por otro lado, los intervalos entre marcadores adyacentes pueden considerarse adecuados, con un intervalo medio de 12,3 cM y sólo dos segmentos que superaron ligeramente los 20 cM. Además, no se detectaron fenómenos de recombinación doble en distancias genéticas inferiores a 20 cM, lo que sugiere, tal y como indican de GORTARI et al. (1998), una baja tasa de error en la identificación genotípica.

Aunque se observaron variaciones en las frecuencias de recombinación estimadas entre las 10 familias, el test de heterogeneidad indicó que estas diferencias no fueron estadísticamente significativas para ninguno de los intervalos analizados. Estos resultados parecen también fiables, dado el número de meiosis analizadas por cada marcador y semental (rango: 28-130, ver Tabla 1), que puede considerarse, en general, bastante elevado, con relación a los datos mencionados anteriormente para los estudios conjuntos de ligamiento. Un factor limitante de este tipo de estudios reside en el número de progenitores heterocigóticos para cada marcador, de forma que no todos los machos resultan informativos para los diferentes intervalos analizados. No obstante, en nuestro estudio este efecto queda paliado, al menos parcialmente, al estudiar un número elevado, tanto de sementales como de intervalos cromosómicos.

Figura 1. Mapa de ligamiento

OarCP125
16,9 cM
INRA133
17,1 cM
McM53
21,7 cM
OarAE101
6,4 cM
BM143
16,4 cM
BMS360
4,4 cM
BM4621
20,5 cM
BM4311
10,1 cM
CSRD293
4,5 cM
OarJMP8
12,7 cM
McM214
7,9 cM
OarJMP12

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRAWFORD, A.M., DODDS, K.G., PIERSON, C.A., EDE, A.J., MONTGOMERY., G.W., GARMONSWAY, H.G., BEATTIE, A.E., DAVIES, K., MADDOX, J.F. et al. (1995). *Genetics* **140:** 703-724.

DE GORTARI, M. J., FREKING, B. A., CUTHBERTSON, R. P., KAPPES, S. M., KEELE, J. W., STONE, R. G., LEYMASTER, K. A., DODDS, K. G. et al. (1998). *Mammalian Genome* **9:** 204-209.

LANDER, E. S., GREEN, P. (1987). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **84:** 2363-2367.

LORD, E.A., LUMSDEN, J.M., DODDS, K.G. (1996). *Mamm. Genome* **7:** 373-376.

MADDOX, J.F., DAVIES, K.P., CUTHBERTSON, R. (1996). *Anim. Genet.* **27 (Supl. 2):** 85-86.

MATEJKA, M, CRIBIU, E.P. (1987). *Génet Sel Evol.* **19:** 113-126.

OTT, J. (1991). *Analysis of human genetic linkage.* John Hopkins University Press, Baltimore MD, USA

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto 1FD97-0225.

LOCALIZACIÓN DEL GEN DE LA SINTASA DE ACIDOS GRASOS (FASN) BOVINA EN EL CROMOSOMA BTA19 (19q22).

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

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

INTRODUCCIÓN.

La sintasa de ácidos grasos (FASN) juega un papel central en la lipogénesis de "novo" en mamíferos. Tiene 7 sitios activos codificados en la misma cadena polipeptídica. La FASN cataliza todos los pasos en la síntesis de palmitato a partir de acetil-coA y malonil-coA en presencia de NADPH. En animales, la síntesis de FASN es un proceso regulado que depende de la dieta y hormonas en todas la etapas de la vida del animal, incluso durante el desarrollo neonatal y diferenciación.

El gen de la FASN ha sido clonado y secuenciado en varias especies como la rata (M84761), pollo (J04485), ratón (X13135) y en la especie humana (NM004104). La FASN humana ha sido localizada sobre el cromosoma humano HSA17 (17q25) (Jayakumar et al. 1994). En relación a la FASN bovina, el presente trabajo supone la primera aportación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento de un fragmento de la FASN específico de la especie bovina.
Para ello se diseñaron dos primers a partir de la secuencia de rata (FASN1 y FASN2); (GenBank accesion number: M84761). Con dichos primers se amplificó un fragmento de 180 pb del gen de la FASN bovina.

La reacción en cadena de la polimerasa fue llevada a cabo usando 20ng de DNA genómico. Las condiciones de amplificación fueron 94ºC durante 30s, 55ºC durante 30s y 72ºC durante 30s. Estas condiciones se repitieron durante 30 ciclos.
El fragmento PCR obtenido fue clonado y secuenciado. La búsqueda de homología se llevo a cabo con el programa BLAST del NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)

Screening de una librería de BACs (Bacterial Artificial Chromosomes).
Los primers FASN1 y FASN2 se utilizaron para la búsqueda de BACs que contuvieran el fragmento aislado, perteneciente al gen de la FASN bovina (Eggen et al., in preparation). La talla de los BACs se determinó mediante FIGE (Field Inversed Gel Electroforesis): BAC 439G6, 50kb y BAC 817E11, 100kb.

FISH: Hibridación in situ fluorescente.
La hibridación in situ fluorescente se llevó a cabo sobre preparaciones de cromosomas bovinos (Hayes et al,2000). La sonda utilizada fue uno de los BACs

positivo para nuestro fragmento de 180pb. La sonda fue marcada con biotina y hibridada con una extensión de cromosomas bovinos, los cuales fueron identificados mediante bandeo RBQ.

Identificación de microsatélites en los BACs aislados.
Mediante digestión con SauIII y posterior ligación con un vector de clonación. Una vez ligados se transformaron bacterias y tras la hibridación con una sonda $(AC)_{10}$ se secuenciaron los clones positivos.

Análisis de un panel de células híbridas.
Este análisis se llevo a cabo usando un panel de 38 clones híbridos de hámster y bovino construido por Heuertz y Horst-Cayla (1981) y caracterizado por Laurent et al. (2000).
Los oligonucleótidos FASN1 y FASN2 fueron usados para detectar la presencia del fragmento de 180 pb que se había aislado previamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha aislado un fragmento de 180 pb de la FASN bovina con los primers FASN1 y FASN 2, diseñados a partir de la secuencia de FASN de rata. La secuencia bovina aislada (AF285607) ha mostrado un alto grado de similitud con el exón 32 de rata (Amy et al.,1992).

FASN1 y FASN2 se utilizaron para el screening de una librería de BACs. Se obtuvieron 8 clones positivos. De uno de ellos (439G6) se hizó una extracción del DNA procedente del BAC para realizar el FISH. Se obtuvo hibridación sobre el cromosoma bovino BTA19 y concretamente en la región 19q22 próximal. Esta señal de hibridación se observa en la Figura 1.

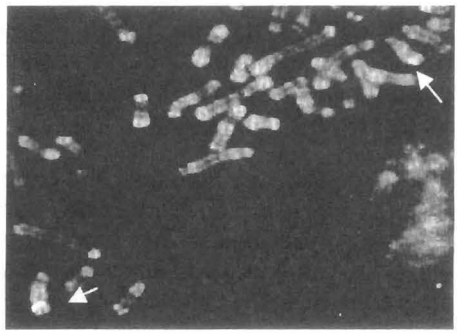


Figura1. Mapeo cromosómico de la FASN mediante FISH. Una señal específica es observada sobre los cromosomas 19q22

Los BACs positivos para el fragmento de 180pb (439G6 y 817E1) se utilizaron para la búsqueda de microsatélites.

En el BAC 439G6 no se encontró ninguna zona repetida, mientras que en el BAC 817E1 se aislaron 2 microsatélites, de los cuales uno resultó muy polimórfico. Tras testar los animales del Panel de Referencia Internacional (IBRP), analizar los datos

realizar el estudio de ligamiento el microsatélite mapeo en el cromosoma BTAX. Este hecho podría explicarse por dos razones: La existencia de una contaminación con la presencia de dos clones en el mismo pocillo o por tratarse de un BAC quimérico, es decir, que tenga parte del cromosoma BTAX además del BTA19, algo que puede darse en un porcentaje de clones de la librería (Schibler et al,1998).

Para confirmar la localización sobre el BTA19 utilizamos un panel de células híbridas somáticas. Este panel tiene 38 clones y solo en uno de ellos esta un presente el cromosoma 19 bovino. Tal y como se muestra en la Figura 2, solo se obtuvo un clon positivo para el fragmento de 180pb. Este resultado ha permitido la confirmación de la localización del gen de la FASN en el BTA19.

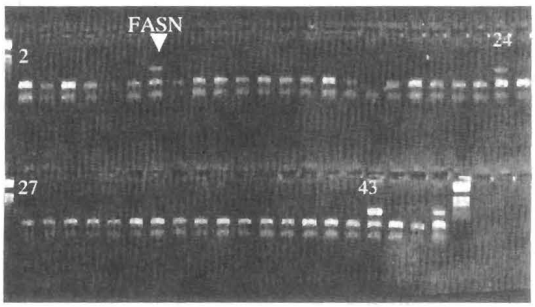


Figura 2: Resultados del análisis del panel de híbridas somáticas. El clon 8 muestra el fragmento específico. La muestra 24 y 25 son controles de bovino y hámster respectivamente. La muestra 43 es de nuevo control bovino, la 44 control de hámster , la 45 control negativo y la 46 control humana.

El análisis de los 6 BACs positivos restantes permitirá la búsqueda de microsatélites para realizar el mapeo genético y además nos servirá para estudiar una población de la que se disponen mediciones de distintos parámetro productivos y determinar si el gen de la FASN puede considerarse candidato a QTL.

BIBLIOGRAFIA.

-Amy M, Williams-Ahlf B, Naggert J, Smith S. *Intron- exon organization of the gene for the mulifunctional animal fatty acid synthase.* Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 89, pp 1105-1108(1992)

-Laurent P, Elduque C, Hayes H, Saunier K, Eggen A, Levéziel H. Assignment of 60 ESTs in cattle Mammalian Genome 11 , 748-754 (2000)

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

-Heuertz S, Hors-Cayla MC. *Cattle gene mapping by somatic cell hybridization study of 17 enzyme markers.* Cytogenet. Cell. Genet. 30, 137-145 (1981)

-Jayakumar A, Chirala S, Chinault C, Baldini A, Abu-Elheiga L, Wakil S. *Isolation and Chromosomal Mapping of genomic Clones Encoding the Human Fatty Acid Synthase Gene.* Genomics 23, 420-424(1994)

Schibler L, Vaiman D, Oustry A, Guinec N, Dangy-Caye, Billault A, Cribiu E. *Construction and extensive characterization of a goat Bacterial Artificial Chromosome library with threefold genome coverage.* Mamm genome 9,119-124 (1998)

EL USO DE LA CLONACIÓN SOMÁTICA EN MEJORA GENETICA ANIMAL

A. Blasco

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia
P.O. Box 22012.Valencia 46071.Spain
ablasco@dca.upv.es

INTRODUCCION

Desde la aparición en la literatura científica de un clon originado a partir del núcleo de una célula somática, la mayor parte de la investigación está enfocada a conseguir clones somáticos de animales transgénicos que producen algún metabolito de interés en medicina humana. Se han sugerido otros muchos usos de la clonación (por ejemplo, crear clones de mascotas caras que puedan consolar a su dueño una vez muerto el original, clones para producir tejidos para transplantes sin la posibilidad de rechazo, etc.). Aquí no voy a examinar ninguna de esas posibilidades, sino solamente aquéllas que hacen referencia a la producción animal. En el Programa Nacional de Biotecnología figura, dentro del objetivo preferente 2.1, el "desarrollo de tecnologías para la clonación de especies de interés en producción animal". En este trabajo se concluye que la clonación tiene un interés marginal en producción animal, por lo que habría sido un error el incluir ésta como objetivo preferente en el Programa Nacional de Biotecnología. Van Vleck (1999) expone las razones por las que no cabe esperar que los clones produzcan mucho más que la media de la población. Aquí utilizaré otros argumentos, basados en cómo sería un hipotético programa de mejora basado en la clonación. Hay una extensa bibliografía considerando el caso de producción de leche, por lo que para el ejemplo me ceñiré al carácter tamaño de camada en porcino o conejo.

PROGRAMAS DE MEJORA BASADOS EN LA CLONACION

El tamaño de camada es un carácter registrado rutinariamente en núcleos de selección, multiplicadoras y granjas comerciales, por lo que podría localizarse individuos extremadamente productivos sin necesidad de realizar registros especiales. Una vez detectados estos animales habría que probar el clon, no sólo por el carácter por el que se seleccionó, tamaño de camada, sino por otros caracteres de interés productivo, no fuera el caso de que el clon tuviera genes simples nocivos para algún carácter, o simplemente desandara el camino andado en la selección por otros caracteres por tener un valor genético muy bajo para estos. Finalmente el clon se implantaría en las granjas comerciales y solamente los núcleos de selección conservarían variabilidad genética para intentar detectar nuevos animales extraordinarios. Los pasos a dar serían:

1) Detectar un animal extraordinariamente productivo: Necesitamos, pues, una población relativamente grande en el que el tamaño de camada esté controlado fiablemente y la calidad genética de los animales para ese y otros

caracteres sea razonablemente buena. Lo normal sería tomar a un núcleo con sus multiplicadoras, y en el caso del porcino también podría hacerse con los miembros de una asociación nacional que controlen sus animales. En cualquier caso es dudoso que se pudiera disponer de una población superior a los 10.000 animales parea realizar la elección. Si consideramos la distribución del tamaño de camada como aproximadamente Normal (aunque es algo asimétrica), la mejor de 10.000 hembras está a 3.62 desviaciones típicas por encima de la media. Tomando una media de 9 destetados y una desviación típica de 3, debería ser posible detectar alguna hembra con 20 destetados. ¿Cuánto producirá este clon? Si consideramos al valor fenotípico como compuesto sólo por el valor genético y el ambiente, el clon producirá por término medio tanto como su valor genético, incluyendo el valor aditivo y las interacciones dominante y epistática. La repetibilidad del tamaño de camada está en torno a 0.15, y la heredabilidad en torno a 0.05. Tomando una heredabilidad en sentido amplio h^2 intermedia, llamando P al valor fenotípico, G al genético, y m a la media

$G - m = h^2 (P - m) + e$ Para $P=20$, $m=9$, $h^2=0.10$, $var(P) = 9$

$\hat{G} = m + h^2 (P - m) = 10.1$ $var(G) = h^4 var(P) + var(e)$;

$var(e) = var(G) - h^4 var(P) = h^2 var(P) - h^4 var(P) = h^2 var(P) (1-h^2) = 0.81$

$s.d.(e) = 0.9$; $approx.I.C.(95\%) = \pm 2 \cdot s.d.(e) = \pm 1.8$,

Es decir, que el valor esperado medio de un clon sería de 10.1 destetados, con un intervalo de confianza al 95% que iría de 8.3 a 11.9, con lo que ni siquiera sabemos si ese clon produciría aún menos que la media de la población. La situación no cambia mucho si usamos la media de tres partos, debido a que la variabilidad de la media de tres partos es inferior y por tanto los animales extraordinarios tienen una media de tres partos más cercana a la media de la población. Además, el conjunto de la población disponible con tres partos registrados es muy inferior a las 10.000 hembras disponibles anteriormente, con lo que la conclusión viene a ser la misma: es necesario probar un clon antes de divulgarlo. Sin recurrir a este tipo de argumentos, sería de todas formas necesario probar el clon no sólo para este sino para otros muchos caracteres, para evitar difundir animales con caracteres genéticamente poco deseables.

2) Probando clones: Tomando la media P_n de n animales idénticos, correlacionados sólo por causas genéticas,

$\hat{G} = m + b (P_n - m)$, donde

$b = var(G)/var(P_n) = var(G) / [var(P)(1/n)(1+(n-1)h^2] = (nh^2) / (1+(n-1)h^2]$

$var(e) = var(G) - b^2 var(P_n) = var(G)(1-b)$; $approx.IC(95\%) = \pm 2 \sqrt{var(e)}$

para $n=10$, $\hat{G} = 9 + 0.52 (P_{10} - m)$ $approx.IC(95\%) = 1.31$

para n = 100, $\hat{G} = 9 + 0.91\ (P_{100} - m)$ approx.IC(95%) = 0.57
Como se ve, hace falta un gran número de individuos clonados para alcanzar una precisión razonable y una estima del valor genético cercana a la media fenotípica.

3) Implantar el clon en las granjas: Imaginemos que, tocados por la Fortuna, obtenemos realmente un clon con un valor genético 3.62 desviaciones típicas por encima de la media (cosa, obviamente, práticamente imposible). En ese caso su valor genético sería

$G = 9 + 3.62\ \sqrt{(9 \times 0.10)} = 12.4$

si todos los granjeros usaran el clon, y nosotros sólo dispusiéramos de un núcleo para continuar el progreso genético, tardaríamos (con un progreso habitual del 2% anual) casi 20 años en alcanzar al clon. Por otra parte la detección de animales extraordinarios con un núcleo de 250 hembras, con el objeto de encontrar un nuevo clon, produciría progresos mínimos en comparación con el clon anterior, detectado tomando células de la mejor hembra entre 10.000. Como es dudoso que existan empresas (salvo tal vez las de whisky de malta) dispuestas a invertir a tan largo plazo, la mejora genética habría llegado a su fin.

ALGUNOS USOS DE LA CLONACION SOMATICA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

1) *Creación de líneas hiperprolíficas*: Las líneas hiperprolíficas se crean a partir de hijos de hembras extraordinarias. Clonando cada hembra hiperprolífica, se podría acortar algo el proceso y mejorar la precisión, aunque por las razones expuestas anteriormente, la ventaja es pequeña.
2) *Núcleos abiertos con clones*: En un núcleo de 250 hembras, por ejemplo, se trataría de integrar una copia de las mejores 25 hembras de la población. El riesgo de disminuir otros caracteres es pequeño, al ser 25 hembras distintas, con una cierta ventaja genética en tamaño de camada respecto a las del núcleo.
3) *Estimación de la heredabilidad en sentido amplio*: En un modelo con efectos genéticos de clones y efectos aditivos, y la matriz de parentesco completa, podrían estimarse la varianza genética y la aditiva, pudiendo al fin estimar la importancia real de las interacciones genéticas.
4) *Mejoras en la estimación de la interacción genotipo medio*: La posibilidad de duplicar poblaciones en distintos ambientes supone un aumento notorio de la precisión de las interacciones genotipo medio, extensible a cualquier tipo de interacción (por ejemplo, en cruzamientos con diversas razas, transferencia de embriones para averiguar interacciones embrión - madre, alimentación, etc.).
5) *Animales para experimentación*: El uso sería similar al de los gemelos en vacuno, con animales cuya variabilidad se debe sólo al ambiente.

REFERENCIAS

VAN VLECK D. 1999. J. of Anim. Sci. 77: Suppl.2: 111-121.

ACTIVIDAD DE LOS ENZIMAS ANTIOXIDANTES EN LA CARNE DE CONEJO.

P. Hernández[1], A. López[2], M. Marco[2], A. Blasco[2].

[1] Departamento de Produccion Animal y Ciencia de los Alimentos.
Universidad Cardenal Herrera-CEU. Edificio Seminario. 46113 Moncada (Valencia).
hernandez@ceu.upv.es

[2] Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia.
Apartado 22012. 46071 Valencia.

INTRODUCCIÓN.

La oxidación de los lípidos es una de las principales causas no microbiológicas de deterioro de la carne. El desarrollo de la oxidación lipídica puede conducir a la aparición de olores y sabores extraños "off-flavor" en los productos cárnicos, y a la decoloración de la carne cruda. Las carnes más magras como la carne de conejo, contienen suficiente cantidad de ácidos grasos poliinsaturados susceptibles de oxidarse, y además, el tejido muscular es una fuente de sustancias catalizadoras de la oxidación. Por otra parte las carnes contienen enzimas antioxidantes endógenas como la catalasa y la glutation peroxidasa, que controlan las fuentes endógenas de peróxidos lipídicos y peróxidos de hidrógeno, las cuales son moléculas prooxidantes. Sin embargo, apenas hay estudios acerca de cómo estos enzimas presentes en la carne pueden modular el deterioro oxidativo de la carne y los productos cárnicos.

La actividad de los enzimas antioxidantes varía entre carnes de distintas especies (Pradhan *et al.*, 2000) y con el tipo de músculo considerado (Hernández *et al.* 2000). El nivel de actividad de estos enzimas podría tener una gran variación entre animales de la misma especie. Estas variaciones serían útiles ya que la selección de animales con altas concentraciones de estos enzimas supondría un incremento en la estabilidad oxidativa de la carne.

El objetivo de este trabajo fue determinar la importancia de las actividades de los enzimas antioxidantes en dos líneas de conejo alejadas genéticamente, así como determinar la estabilidad de los enzimas antioxidantes en la carne de conejo durante su almacenamiento en refrigeración, y su influencia en la oxidación lipídica.

MATERIAL Y MÉTODOS.

A un peso comercial de 2 kg, se sacrificaron 16 conejos pertenecientes a dos líneas sintéticas seleccionadas por distintos criterios, una línea seleccionada por velocidad de crecimiento y otra por tamaño de camada. Tras 24 horas se procedió a la disección y picado del músculo *Longissimus dorsi* (LD) y de los músculos de la pierna (P). Cada músculo picado se distribuyó en tres lotes, cada uno de los cuales se colocó en una placa petri y se cubrió con un film de PVC permeable al oxígeno. Cada placa se almacenó a 4ºC durante 0, 2 y 5 días. Después del periodo de almacenamiento se procedió a la realización de los análisis.

Se determinó la actividad de catalasa siguiendo el procedimiento de Aebi (1983) adaptado por Pradhan *et al.* (2000). La actividad de glutation peroxidasa se determinó según el procedimiento descrito por Mei *et al.*, 1994. Así mismo, se determinó el nivel de oxidación por el método del TBARS (Raharjo *et al.*, 1992). Los datos fueron analizados mediante un análisis de la varianza usando un modelo mixto considerando el animal como efecto aleatorio y el tiempo, tipo de músculo y línea como efectos fijos. Se usó el procedimiento PROC MIXED del paquete estadístico SAS (1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La actividad de catalasa fue mayor en los músculos de la pierna que en el músculo LD (287 y 190 U/g músculo, respectivamente). Dichos valores son inferiores a los obtenidos en carne de vacuno, cerdo y muslo de pollo, aunque superiores a los valores de la pechuga de pollo (Pradhan et al., 2000). La figura 1 muestra las actividades de catalasa y glutation peroxidasa (GSH-Px) durante el tiempo de almacenamiento en refrigeración para el músculo LD y los músculos de la pierna. La actividad de catalasa se mantuvo estable durante el periodo de almacenamiento en los músculos de la pierna mientras que en el LD se observó un ligero descenso a los dos días de almacenamiento en refrigeración, no observándose diferencias significativas entre 2 y 5 días de almacenamiento. Algunos estudios previos han puesto de manifiesto la estabilidad de la catalasa durante el almacenamiento en refrigeración (Renerre et al., 1996; Pradhan et al., 2000). No obstante, otros estudios (Renerre et al., 1999) indican que dicha estabilidad pude variar con el tipo de músculo considerado.

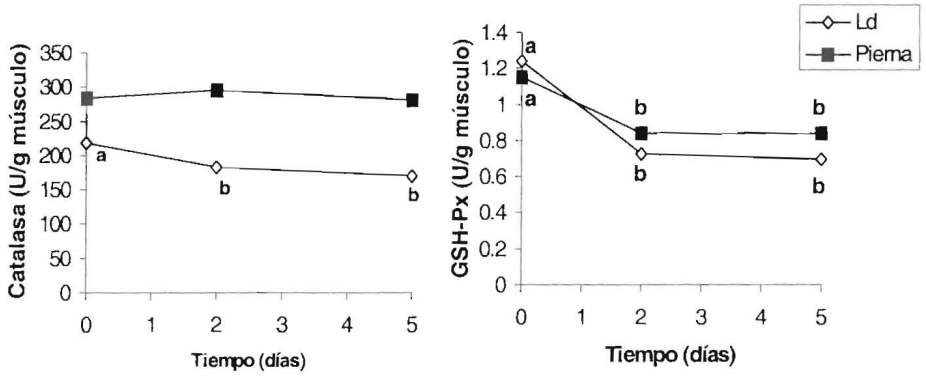
En el caso de la actividad de GSH-Px (figura 1) se observaron unas ligeras diferencias ($P \leq 0.05$) con el tipo muscular y un descenso de la actividad entre 0 y 2 días de almacenamiento en refrigeración en ambos tipos de músculo. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en carne de pavo (Renerre et al., 1999) y en carne de cerdo (Hernández et al., 2000). No obstante, difieren de los obtenidos en pescado (Watanabe et al., 1996) y vacuno (Renerre et al., 1996). Los valores de la actividad de GSH-Px en la carne de conejo son bastante elevados si se comparan con los de la carne de cerdo (en torno a 0.2 U/g; Lee et al. 1997; Hernández et al., 2000). Es posible que la alta actividad de GSH-Px esté compensando el menor nivel de actividad presentado por la catalasa. Respecto al grado de oxidación de la carne, no se observó un aumento de la misma durante el periodo de almacenamiento en los músculos analizados (valor medio de TBARS = 0.5 mg de MDA/Kg de músculo).

En cuanto a la influencia del tipo genético en las actividades enzimáticas sólo se observaron pequeñas diferencias en la actividad de GSH-Px en el músculo LD, presentando una mayor actividad ($P<0.10$) en los animales perteneciente a la línea R seleccionada por velocidad de crecimiento (0.948 y 0.822 U/g de músculo para la línea R y V respectivamente). No se observaron diferencias significativas con el tipo genético en la actividad de catalasa.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la actividad de GSH-Px puede tener un importante papel en el control de la oxidación lipídica en la carne de conejo debido a su elevada actividad. Esta alta actividad parece ser suficiente para controlar el nivel de oxidación durante el periodo de almacenamiento, a pesar del

descenso que se produjo en su actividad entre 0 y 2 días de almacenamiento en refrigeración. Hay indicios de la existencia de variabilidad genética entre líneas para la actividad de GSH-Px aunque se necesitarían más análisis para confirmar esta posible influencia del tipo genético en la actividad de GSH-Px.

Figura 1. Influencia del tiempo de almacenamiento en refrigeración a 4ºC en las actividades de Catalasa y GSH-Px para cada tipo de músculo, *longissimus dorsi* (Ld) y músculos de la pierna. Medias con letras diferentes en cada tipo de músculo, difieren significativamente (P< 0.05).



REFERENCIAS.

Aebi, H. E. 1983. Methods of Enzymatic Analysis, ed. H. U. Bergmeyer, Vol.3, pp. 273-286. Verlag Chemie, Weinheim, Germany.

Hernández, P.; Park, D. K., Rhee, K. S. 2000. IFT Congress. Dallas, TX. USA.

Lee, S. K., Mei, L., Decker, E. A. 1997. Meat Sci. 46: 349-355.

Mei, L., Crum, A. D., Decker, E. A. 1994. J. Food Lipids. 1, 273-283.

Pradhan, A. A., Rhee, K. S., Hernández, P. 2000. Meat Sci. 54: 385-390.

Raharjo, S., Sofos, J. N., Schmidt, G. R. 1992. J. Agric. Food Chem. 40: 2182-2185.

Renerre, M., Dumont, F., Gatellier, P. 1996. Meat Sci. 43: 111-121.

Renerre, M., Poncet, K., Mercier, Y., Gatellier, P. Métro, B. 1999. J. Agric. Food Chem. 47: 237-244.

SAS. 1996. SAS Institute Inc. Cary, NC.

Watanabe, F., Goto, M., Abe, K., Nakano, Y. 1996. J. Food Sci. 61: 734-735, 782.

PATRÓN DE RESISTENCIA GENÉTICA AL SCRAPIE EN GANADO OVINO DE RAZA LATXA

Sanz-Parra, A.[1]; Barandika J.[1], Beltrán De Heredia, I.[2]; Arrese, F.[3]; Hurtado A.[1], Juste, R.A.[1], Oporto, B.[1], García Crespo D.[1] y García-Pérez, A.L.[1]

[(1)]Dpto. de Sanidad Animal, Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER); Berreaga 1, 48160 Derio-Bizkaia. [(2)]Dpto. de Agrosistemas y Producción Animal, (NEIKER); Granja Modelo de Arkaute, 01080 Vitoria-Gasteiz. [(3)]ARDIEKIN, S.L., Granja Modelo de Arkaute, 01080 Vitoria-Gasteiz. asanz@neiker.net

INTRODUCCIÓN

La tembladera, prurito lumbar o scrapie, es una enfermedad neurodegenerativa, perteneciente al grupo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles (EETs), que afecta a ovinos y caprinos. La sintomatología de esta dolencia incluye prurito, hiperexcitabilidad, temblores, incoordinación en la marcha y finalmente parálisis y muerte. Se ha detectado la presencia del agente infeccioso (proteina prión PrP^{sc}) sobre todo en el sistema nervioso (cerebro, médula, etc.) y en menor medida en placenta y amígdalas. No se ha detectado hasta el momento en esperma y testículos, saliva y glándulas salivares, ni en leche.

En ovino, el gen PrP codifica una proteína de 256 aminoácidos. El genotipo de las ovejas para este gen, influye decisivamente en el padecimiento de la enfermedad y son, en concreto, los polimorfismos detectados en los codones 136, 154 y 171 los que modulan dicha susceptibilidad (Goldmann y otros 1990; Belt y otros 1995, Hunter y otros 1996). Así por ejemplo existen alelos y genotipos asociados a resistencia (ARR, AHQ) o susceptibilidad a padecer la enfermedad (ARQ, ARH, VRQ) y, aunque existen variaciones según las razas, en general, los animales con genotipo ARR/ARR son más resistentes a padecer la enfermedad, mientras que los VRQ/VRQ son los más sensibles (Dawson, et. al., 1998).

Ardiekin inició en 1998 el genotipado de sus machos para el gen PrP. En 1999 nuestro grupo inició los trabajos de puesta a punto y aplicación de las técnicas de tipado genético en ovino para la resistencia al scrapie. La aplicación de la información obtenida en la mejora de la resistencia mediante el descarte de los animales hipersensibles y la selección de los resistentes en el centro de selección de machos (Ardiekin), es uno de nuestros objetivos actuales. En esta comunicación se presentan, los primeros datos comparativos para la raza Latxa referentes a las frecuencias alélicas y génicas obtenidas para dos poblaciones de animales: los machos del centro de Selección y Mejora Genética, y ovejas y machos pertenecientes a 9 rebaños comerciales en los que nunca se han presentado casos de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales analizados. Se han analizado un total de 649 animales (585 hembras y 64 machos) de 9 rebaños comerciales que pertenecen a la Asociación de Criadores de Raza Latxa de Gipuzkoa y que participan en el Plan de Mejora Genética de la raza. Tres de estos rebaños son de la variedad Latxa Cara Negra (LCN) y 6 de Latxa Cara Rubia (LCR). Se analizaron los machos así como un número de ovejas proporcional al censo de cada rebaño.

También se han analizado 317 moruecos del centro de Selección y Mejora Genética de Ardiekin (182 LCN y 135 LCR).

Análisis. A todos los animales (n=966) se les extrajo 5 ml de sangre en EDTA. Los polimorfismos en el codón 136 y 154 se identificaron mediante análisis de los tamaños de los fragmentos de restricción (RFLP) utilizando la enzima *Bsp*H1. Los polimorfismos en el codón 171 se detectaron mediante hibridación con una sonda marcada con digoxigenina específica de alelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los resultados obtenidos en los rebaños comerciales (Tabla 1) destaca la alta frecuencia del alelo ARQ asociado a sensibilidad al scrapie tanto en LCN como en LCR, seguido del alelo ARR asociado a resistencia. El alelo hipersensible VRQ también se detectó aunque en muy baja proporción.

En cuanto a las frecuencias génicas, según la clasificación de Dawson et al. (1998), hay que señalar el alto porcentaje de genotipos asociados con una susceptibilidad al scrapie moderada (ARR/ARQ, ARQ/ARQ), tanto en LCN como en LCR. También se observa que mientras el genotipo asociado a una mayor resistencia (ARR/ARR), se detectó en un 7% de LCN y en un 6% de LCR, el genotipo ovino asociado con mayor hipersensibilidad, VRQ en homocigosis, no se detectó en ninguno de los animales analizados.

Tabla 1. Frecuencias alélicas y génicas encontradas en 9 rebaños comerciales de raza Latxa (n= 649)

Frecuencias alélicas						
		LCN			LCR	
(*)	total	hembras	machos	total	hembras	machos
ARR	0.298	0.293	0.341	0.235	0.240	0.191
AHQ	0.002	0.002	0	0.004	0.004	0
ARQ	0.694	0.700	0.636	0.712	0.709	0.738
VRQ	0.006	0.005	0.023	0.049	0.047	0.071
Frecuencias génicas						
		LCN			LCR	
	total	hembras	machos	total	hembras	machos
ARR/ARR	0.073	0.067	0.136	0.058	0.061	0.024
ARR/ARQ	0.444	0.448	0.409	0.336	0.340	0.286
AHQ/ARQ	0.004	0.005	0	0.007	0.008	0
ARQ/ARQ	0.466	0.471	0.409	0.501	0.495	0.548
ARR/VRQ	0.004	0.005	0	0.019	0.019	0.048
ARQ/VRQ	0.009	0.005	0.046	0.079	0.077	0.095

LCN=Latxa Cara Negra, (n=232)/ LCR=Latxa Cara Rubia, (n=417). (*) De mayor a menor resistencia al prurito lumbar (Q=Q ó H en el codón 171).

Los resultados obtenidos en el rebaño del centro de selección de machos de Ardiekin (Tabla 2), compuesto por animales procedentes de numerosos rebaños, pueden representar bien la situación de la raza Latxa. Aparecen frecuencias relativamente bajas para el alelo asociado con alta susceptibilidad VRQ, tanto en LCN (0,016) como en LCR (0,019), y una mayor frecuencia para el alelo asociado con resistencia ARR, (LCN: 0,242 y LCR 0,255). El alelo ARQ fue el más frecuente en ambas razas: 0,725 para LCN y 0,726 para LCR. En cuanto a las frecuencias génicas observadas, tanto en LCN como en LCR, la combinación ARQ en homocigosis fue la más frecuente (0,51), seguida por ARR/ARQ con una frecuencia de 0,37. Por otro lado, la frecuencia del alelo VRQ en los animales de ARDIEKIN, es menor que la obtenida en rebaños comerciales tanto de LCR como de LCN. Tras la realización del tipado genético, todos los animales con el alelo VRQ fueron rechazados del Programa de Selección y Mejora Genética de Ardiekin.

Tabla 2. Frecuencias alélicas y génicas encontradas en machos de raza Latxa del Centro de Selección de ARDIEKIN (n= 317)

	Frecuencias alélicas	
(*)	LCN	LCR
ARR	0.242	0.255
AHQ	0.016	0
ARQ	0.725	0.726
VRQ	0.016	0.019
	Frecuencias génicas	
	LCN	LCR
ARR/ARR	0.044	0.067
ARR/AHQ	0.011	0
ARR/ARQ	0.374	0.378
ARQ/AHQ	0.022	0
ARQ/ARQ	0.516	0.518
ARR/VRQ	0.011	0
ARQ/VRQ	0.022	0.037

LCN=Latxa Cara Negra, (n=182)/ LCR=Latxa Cara Rubia, (n=135). (*) De mayor a menor resistencia a scrapie (Q=Q ó H en el codón 171).

Actualmente el diagnóstico de scrapie se basa en la aparición de síntomas clínicos y en la demostración de lesiones específicas en el encéfalo, así como mediante la detección del agente infeccioso mediante pruebas rápidas, o técnicas de inmunohistoquímica a partir de tejidos afectados; por tanto hoy en día no existe un método de diagnóstico precoz que permita detectar la infección subclínica antes de que aparezca la enfermedad. En este contexto, el tipado genético adquiere una mayor relevancia como herramienta para la prevención del scrapie.

En la Comunidad Autónoma Vasca se lleva a cabo desde 1985 un programa de mejora genética de la oveja Latxa para producción de leche en base al uso de la inseminación artificial. Es evidente el interés de conocer el genotipo para el scrapie de los machos que entran en el centro de selección, así pues hemos sido el primer grupo en todo el estado español en incorporar las pruebas de tipado genético para sustituir los machos de alto riesgo o hipersensibles por resistentes. No obstante es necesario realizar un estudio para valorar la posible pérdida de ganancia genética como consecuencia de su aplicación.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por Proyecto Aquitania-Euskadi, Departamento de Presidencia, Secretaría General de Acción Exterior; por la Unión Europea FAIR J-CT98- 7023 (1999-2003); y por el Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco-DAP (proyecto SPE1999113). D. García Crespo disfruta de una beca de formación del DAP, y A. Hurtado de una beca postdoctoral del INIA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELT, B.G.M., MUILEMAN, I.H., SCHREUDER, B.E.C., BOS-DE RUIJTER, J., GIELKENS, A.L.K., SMITS, M.A., 1995. J. Gen. Virol., 76, 509-517.

DAWSON, M., HOINVILLE, L.J., HOSIE, B.D., HUNTER, N., 1998. Vet. Rec., 142, 623-5.

GOLDMANN, W., HUNTER, N., FOSTER, J.D., SALBAUM, M., BEYREUTHER, K., HOPE, J., 1990. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 2476-2480.

HUNTER, N., FOSTER, J.D., GOLDMANN, W., STEAR, M.J., HOPE, J., BOSTOCK, C., 1996. Arch. Virol., 141, 809-824.

APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE IONIZACIÓN POR ELECTROSPRAY AL ANÁLISIS SIMULTANEO DE INSULINA E IGF-II

Tor, M.; Villalba, D.; Cubiló, M.D.; Molina, E.; Vilaró, F. [1] y Estany, J.

Departament de Producció Animal. UdL. Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.
[1]Departament de Química. UdL. Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.

INTRODUCCIÓN

Los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) son hormonas peptídicas con propiedades metabólicas multifuncionales (McMurtry et al., 1997). Juntamente con la hormona del crecimiento son el principal punto de integración entre el control endocrino del crecimiento y el estado nutricional del animal, al tiempo que existen evidencias de variaciones genéticas en los IGFs relacionadas con la velocidad de crecimiento (Clutter et al., 1995). En la actualidad la técnica analítica mas frecuente en la determinación de los niveles plasmáticos de estas hormonas proteicas es el radioinmunoensayo. Para realizar correctamente estas determinaciones es necesaria la eliminación previa de las interacciones que sobre los IGFs ejercen sus proteínas portadoras (IGFBPs), por las que presentan una alta afinidad. Para ello, la solución mas eficaz (Lee y Henricks, 1990) es separar los IGFs de las IGFBPs mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC). En la actualidad, la existencia de sistemas que combinan la espectrometría de masas (MS) con equipos RP-HPLC permite plantear la posibilidad de cuantificar directamente los niveles plasmáticos de IGFs a la salida de la columna. Con esta técnica, se pueden identificar complejos proteicos (Pandey y Mann, 2000) y se alcanzan altas sensibilidades de detección si se restringe el intervalo de masas de lectura. Además presenta dos ventajas adicionales: poder realizar determinaciones simultáneas de diferentes hormonas y facilidad de adaptación al plasma de diferentes especies animales. En este estudio, mediante la utilización de patrones, se tratará de optimizar las condiciones del trabajo del sistema RP-HPLC/MS, establecer cuales son las masas que confieren mayor sensibilidad y selectividad para la insulina y el IGF-II y calcular su curva de respuesta, en solución acuosa, a concentraciones similares a las del plasma sanguíneo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La insulina utilizada es de páncreas porcino suministrada por Sigma-Aldrich (Steinheim. Germany). El IGF-II utilizado es humano recombinante producido en *E.coli* y suministrado por GroPep (North Adelaide, Australia). Los patrones fueron reconstituidos en ácido fórmico 0,1M. El sistema utilizado es un módulo de separación Waters Alliance 2690 con un MS acoplado Micromass ZMD 2000MS. Para determinar el espectrograma de masas completo de los patrones se realizó la inyección por infusión directa registrando a distintos voltajes de cono (10V, 30V, 50V, 70V y 100V). Una vez determinadas las masas y voltajes óptimos de registro, se realizó la separación de mezclas de patrones mediante una columna Symmetry C_4 (2,1×150 mm, 300 Å, 5 μm; Waters Corporation, Milford, USA). Dicha separación permite una cuantificación efectiva de las hormonas. Se registraron 2 canales en modo Select Ion Recording (SIR): uno con las 2 masas seleccionadas para la

insulina (964amu a 30V y 1156amu a 50V) y otro con las masas seleccionadas para el IGF-II (934amu a 30V y 1068amu a 50V). El ajuste de las curvas lineales se realizó mediante el procedimiento REG y el ajuste de las curvas logarítmicas mediante el procedimiento NLIN, ambos del programa SAS, 1999.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede observar el espectrograma de masas para la insulina. No se presentan las lecturas realizadas a voltajes superiores a 50V debido a que no aparecieron masas claramente más abundantes o presentaron abundancias similares a las realizadas a 50V pero con mayor ruido de fondo. La lectura realizada a 10V se desestimó y tampoco se presenta, debido a que las masas más abundantes son sensiblemente inferiores a las que se obtuvieron en las lecturas realizadas a 30V y 50V. Para obtener un equilibrio entre sensibilidad y selectividad se decidió leer la insulina con un SIR de 2 masas : 964amu a 30V y 1156amu a 50V. Para el IGF-II se desarrolló un proceso paralelo escogiéndose también un SIR de 2 masas: 934 amu a 30V y 1068amu a 50V.

En la Figura 2 se presentan los cromatogramas de la insulina y el IGF-II a una concentración de 500 ng/ml. En estas condiciones de trabajo, el IGF-II presentó un tiempo de retención 1,17' inferior al de la insulina. Fue posible la integración correcta de ambos picos a partir de una concentración de 250 ng/ml. En ambos SIRs la señal registrada del compuesto para el que las masas no estaban optimizadas, no superó el 2% de la señal obtenida cuando si lo estaban. Por tanto este método de registro presenta una elevada selectividad para estos dos compuestos.

Como se observa en la Figura 3, para el intervalo estudiado, el ajuste lineal para la respuesta de la insulina fue aceptable, mientras que para el IGF-II el mejor ajuste es a una función logarítmica. Como resumen de este trabajo preliminar puede decirse que con la metodología utilizada se puede cuantificar simultáneamente la insulina y el IGF-II en soluciones acuosas, en el mismo rango de concentraciones que tiene el IGF-II en el plasma sanguíneo. Para poder cuantificar la insulina a sus niveles plasmáticos deberá mejorarse la sensibilidad. Los cromatogramas, cuando la matriz fue el plasma sanguíneo, mostraron un elevado ruido de fondo en el tiempo de retención de ambos compuestos. Por ello, para desarrollar un método de análisis en plasma, que permita mantener el mismo nivel de sensibilidad, probablemente será necesario realizar un fraccionamiento previo del mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Clutter, A. C.; Spicer, L. J.; Woltmann, M. D.; Grimes, R. W.; Hammond, J. M.; Buchanan, D. S.(1995). **Journal of Animal Science** *73*, 1776-1783
Lee, C. Y. ; Henricks, D. M. (1990). **Journal of Endocrinology**, 127, 139-148.
McMurtry, J.P.; Francis, G.L.; Upton, Z. (1997). **Domestic Animal Endocrinology** 14, 199-229.
Pandey, A.; Mann, M. (2000). **Nature** 405: 837-846.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por la CICYT (proyecto AGF99-1221)

Figura 1. Espectrogramas de masas de la insulina a diferentes voltajes de cono.(← masas de registro seleccionadas)

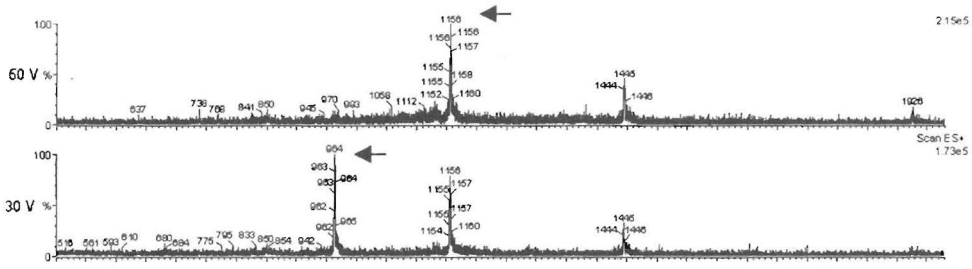


Figura 2. Cromatogramas simultáneos de IGF-II (SIR a 934amu a 30V y 1068amu a 50V) e insulina (SIR a 964amu a 30V y 1156amu a 50V) a una concentración de 500ng/ml

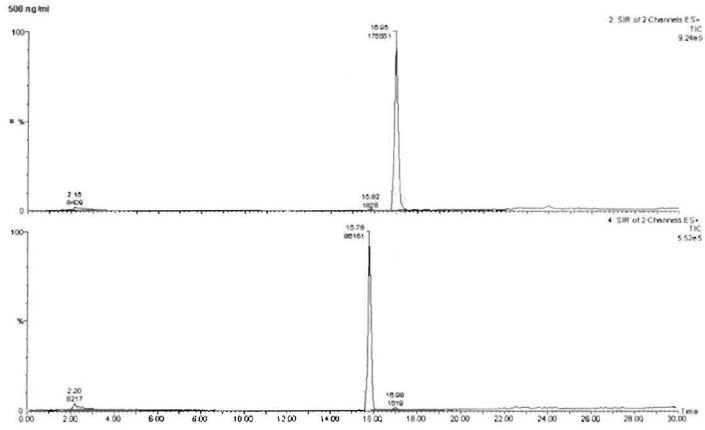
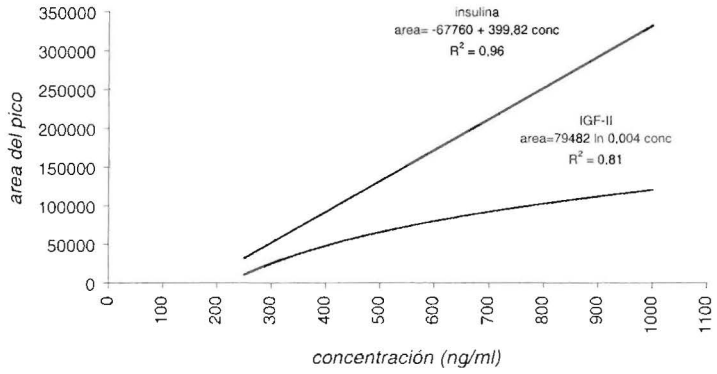


Figura 3. Curva de respuesta del IGF-II (SIR a 934 amu a 30V y 1068amu a 50V) e insulina (SIR a 964amu a 30V y 1156amu a 50V)



CAMBIOS DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA NO AUTOSÓMICA EN UNA POBLACIÓN DE CERDOS IBÉRICOS

Miguel Toro, Jaime Rodrigáñez, Carmen Rodriguez y Luis Silió
Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Madrid

INTRODUCCIÓN

Tanto en los estudios relacionados con las evaluaciones genéticas en programas de mejora como los relacionados con los análisis genealógicos en programas de conservación los cálculos de la consanguinidad y del parentesco se refieren a los genes autosómicos. Sin embargo en los últimos años ha habido un interés en la parte no autosómica de la herencia. Por una parte en los análisis filogenéticos y de estructura poblacional tanto el ADN mitocondrial como los genes del segmento diferencial del cromosoma Y juegan un papel fundamental (Avise, 2000). Por otra parte, algunos estudios parecen haber detectado influencia del citoplasma materno en algunos caracteres como la producción de leche en vacuno (Gibson y Freeeman, 1994) y también se ha cuestionado la supuesta inactividad del cromosoma Y que parece influir en caracteres de fertilidad y de propensión a ciertos tipos de cánceres en humanos. Finalmente estudios de detección de QTLs han indicado la sustancial influencia de los genes del cromosoma X en algunos caracteres productivos del porcino (Harlizius et al., 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados corresponden a la estirpe Torbiscal, obtenida en 1963 a partir de la fusión de cuatro antiguas estirpes, que se mantenían, desde 1944-45, en la piara experimental El Dehesón del Encinar (Oropesa, Toledo). Dos de estas estirpes eran coloradas y de origen portugués, mientras que las otras dos , negras, procedían de ganaderías extremeñas (Odriozola, 1976). Desde entonces ha permanecido aislada genéticamente con un censo aproximado de 15 machos y 60 hembras, disponiéndose de la genealogía completa (Rodrigáñez et al., 2000).

Cuadro 1. Información genealógica analizada: fundadores, cohortes trianuales y reproductores de la población *Torbiscal*

Número de animales en genealogía (1944-2000)	3584
Número de fundadores de *Torbiscal*	71
# machos	36
# hembras	35
Número de cohortes (1963-2000)	13
Número de reproductores *Torbiscal*	1980

Para los análisis genealógicos, un fundador se define como un animal sin relación genética conocida con otro de la genealogía, exceptuados sus descendientes. Sólo 71 de los 116 fundadores contribuyeron realmente a la actual población de Torbiscal. La información genealógica se resume en el

Cuadro 1. Los reproductores se agruparon en cohortes trianuales, según fecha de nacimiento.

La diversidad genética no autosómica se calculó como el número de linajes paternos (cromosomas Y) supervivientes en cada cohorte y como el número de linajes maternos (mitocondrias) supervivientes. Para los genes del segmento diferencial del cromosoma X ésta se estimó como el coeficiente de parentesco global de las hembras de cada cohorte (incluyendo los autoparentescos). Para ello se modificó el método tabular de la siguiente forma. Si P y Q son el padre y la madre de la hembra H y R es la madre del macho M:

$$f_{M,M'} = f_{R,M'} \qquad f_{M,M} = 1$$

$$f_{H,H'} = 0.50\,(f_{P,H'} + f_{Q,H'}) \qquad f_{H,H} = 0.50\,(1 + f_{P,Q})$$

$$f_{M,H'} = f_{R,H'}$$

siendo $f_{M,MM'}$,es el parentesco entre los machos M y M', $f_{H,H'}$ el parentesco entre las hembras H y H' y $f_{M,H'}$ el parentesco entre el macho M y la hembra H'. Los parentescos para los genes autosómicos se calcularon siguiendo las reglas clásicas del método tabular.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto los genes del cromosoma Y como los de la mitocondria evolucionan en linajes sometidos a un fuerte proceso de deriva genética siendo su censo efectivo aproximadamente la cuarta parte del censo efectivo de los genes autosómicos. El número de linajes maternos y paternos participantes en la obtención de Torbiscal fue sólo 13 y 7, que actualmente han quedado reducidos a 7 y 2, respectivamente (Figura 1). Esta información probablemente deba ser considerada en la gestión futura de la diversidad genética de la piara.

El censo efectivo para los genes del cromosoma X puede ser, en principio, tanto mayor como menor que el censo para los genes autosómicos (Caballero, 1995). Así, por ejemplo, en una situación de igual número de machos y de hembras, apareamiento aleatorio y distribución Poisson de los tamaños familiares, dicho censo es un 25% menor. Sin embargo si la varianza de estos tamaños está minimizada el censo sería un 25% mayor (y además sólo dependería del número de machos). En nuestra situación, el censo efectivo ha sido aproximadamente un 12% menor. La evolución del parentesco global de las hembras tanto para el cromosoma X como para los autosomas se representa en la Figura 2. Para la última cohorte, el parentesco global para el cromosoma X fue 0,23 (machos con machos), 0,19 (machos con hembras), 0,21 (hembras con hembras) y la consanguinidad promedio de las hembras 0,17 frente a valores autosómicos de 0,20, 0,17, 0,19 y 0,15. Aunque el mantenimiento de la diversidad genética fue siempre (y especialmente desde 1982) considerada como primordial en la gestión del programa no siempre pudo garantizarse un estricto cumplimiento de las reglas de minimización de los tamaños familiares debido a restricciones tales como la mortalidad o infertilidad de algunos individuos.

Figura 1. Número de mitocondrias y cromosomas Y fundadores supervivientes

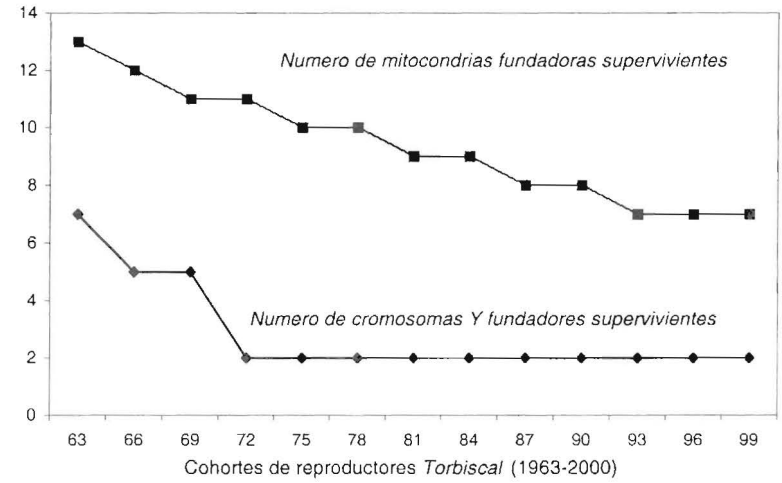
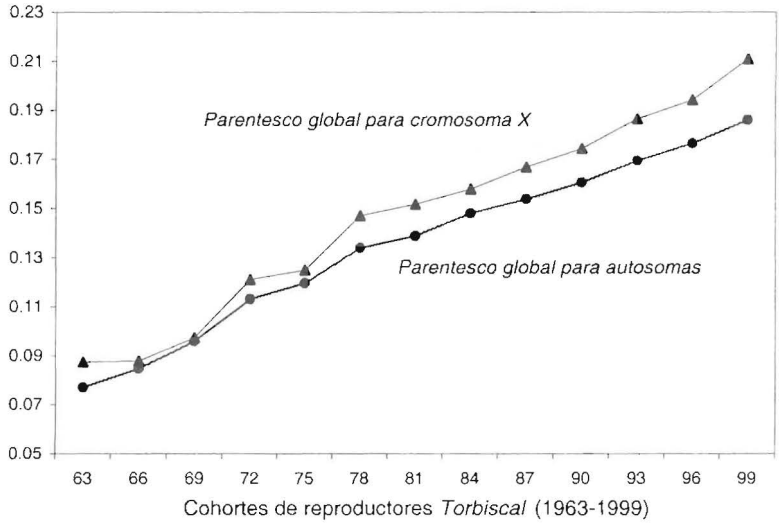


Figura 2. Parentesco global entre hembras para el cromosoma X y autosomas



REFERENCIAS

Avise, J.C. (2000) *Phylogeography*. Harvad University Press

Gibson, J.P y Freeman,A.E. (1994) *45th Annual Meeting of EAAP. Edimburgo*

Caballero, A. (1995) *Genetics* 139: 1007-1011.

Harlizius et al. (2000) *Mammalian Genome* 11: 800-802.

Odriozola M. (1976) *Investigación sobre los datos acumulados en dos piaras experimentales*, IRYDA, Madrid.

Rodrigáñez et al. (2000) *Cahiers Options Mediterranéennés* 41:57-61.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto SC98-083.

ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA EFICIENCIA DE UN ÍNDICE DE SELECCIÓN REDUCIDO A CARACTERES DE PRODUCCIÓN CUANDO EL OBJETIVO DE SELECCIÓN CONSIDERA TAMBIÉN CARACTERES REPRODUCTIVOS

J.L. Campo y H. Turrado
Departamento de Genética y Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

El número de caracteres incluídos en el índice de selección de Smith-Hazel suele coincidir con el de caracteres incluídos en el objetivo de selección, aunque hay casos en los que el índice tiene menor o mayor número de caracteres que el objetivo (índice reducido o aumentado, respectivamente). Ejemplos del primer tipo son aquellos programas que consideran simultáneamente caracteres de producción y caracteres de reproducción o de calidad, y el mejorador desea evaluar el efecto sobre la eficacia de la selección al eliminar algún carácter en el índice. Ejemplos del segundo tipo son aquéllos que incluyen en el índice caracteres sin valor económico directo pero que influyen intensamente en otros que sí lo tienen (madurez sexual y producción de huevos en ponedoras). La eficiencia relativa de estos índices en comparación con el original puede medirse como el cociente de las respuestas que producen en el objetivo de selección (Cunningham ,1969: Acta Agric. Scand. 19, 45-48).

Los resultados obtenidos con los índices reducidos en los programas de mejora han sido muy variables. Parratt y Simm (1987: Anim. Prod. 45, 87-96), y Simm y col. (1987: Anim. Prod. 45, 465-475) usaron caracteres de producción y de calidad de carne en ovino, eliminando o no del índice los segundos. Hovenier y col. (1994: 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production 465-468) usaron índices reducidos similares en porcino. Amer y col. (1998: Anim. Sci. 67, 445-454) usaron caracteres de producción y de reproducción en vacuno de carne, eliminando o no del índice los segundos. Gjedren (1967: Acta Agric. Scand. 17, 263-275), y Sivanadian y Smith (1997: J. Anim. Sci. 75, 2016-2023) han analizado teóricamente la eficiencia de los índices aumentados. El objetivo de este estudio fue comparar la realidad con la teoría, usando un índice reducido para peso a los 21 y 31 días en *Tribolium castaneum*, alternativamente con el índice que incluía además la masa de huevos puestos entre los 28 y los 30 días. La correlación genética y la fenotípica entre la masa de huevos y los dos pesos era igual a cero.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento tenía cuatro repeticiones y cinco generaciones de selección por línea, con 20 pares de reproductores y 200 candidatos a la selección por línea (cinco machos y cinco hembras en cada familia). La proporción de selección era el 20%. El objetivo de selección ($H = a'g$) incluía los valores de mejora para el peso a los 21 días, el peso a los 31 días, y la masa de huevos entre los 28 y los 30 días (ponderaciones igual a 1). En la línea IC el criterio de selección era un índice que incluía la información fenotípica para los tres caracteres ($I = b'x$), mientras que en la línea IR se utilizaba un índice reducido a los dos primeros caracteres, eliminando la información fenotípica para la masa de huevos. La información fenotípica era individual para las hembras,

mientras que para los machos de la línea IC era fraternal en la masa de huevos. Los coeficientes del índice se calculaban por mínimos cuadrados ($P = b^{-1} G a$). En cada repetición había una línea control sin seleccionar. La respuesta observada a la selección se calculó como el coeficiente de regresión de la diferencia entre la línea seleccionada y la control en cada generación sobre el número de generación. El error típico de la respuesta se calculó como la raíz cuadrada de la varianza entre coeficientes de regresión dividida por el número de repeticiones. La respuesta esperada a la selección para cada carácter en la generación n+1 es:

$$\Delta_{n+1} = G_n bi / \sqrt{b' P_n b}$$

donde i es la intensidad de selección. La relación de recurrencia para calcular la matriz G teniendo en cuenta el efecto de la selección (Bulmer, 1971: Am. Nat. 105, 201-211), es (Tallis y Leppard, 1988: Theor. Apl. Genet. 75, 278-281):

$$G_{n+1} = (0{,}5G_n + 0{,}5k(b' P_n b)^{-1} G_n b b' G_n) + (0{,}5G_0) = G_{n+1}^{entre} + G_{n+1}^{dentro}$$

donde k es el cambio en la varianza como resultado de la selección. El cambio en la matriz P es el mismo que el correspondiente a la matriz G. Para tener en cuenta los efectos del muestreo (Keightly y Hill, 1987: Genetics 117, 573-582) y de la consanguinidad (Langlois, 1990: Genet. Sel. Evol. 22, 119-132) la matriz de varianzas genéticas entre familias se multiplica por 1-1/40, y la matriz de varianzas genéticas dentro de familias se multiplica por 1-F_n.

La respuesta esperada en el objetivo de selección es: $\Delta H = a' \Delta g$. La eficiencia relativa del índice reducido (Cunningham, 1969), es:

$$\sqrt{1 - \frac{b_3^2 w_{33}}{b' P b}}$$

donde w_{33} es el elemento diagonal de P^{-1} correspondiente a la masa de huevos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La diferencia entre líneas para la respuesta observada en el objetivo de selección fue significativa ($P < 0{,}01$), siendo la respuesta de la línea IC aproximadamente el doble que la respuesta de la línea IR (Tabla 1). La respuesta era significativamente distinta de cero en ambas líneas. La eficiencia del índice reducido era 0,52. La respuesta para el peso a los 21 días era similar en ambas líneas, y significativamente distinta de cero; lo mismo ocurría para el peso a los 31 días. La respuesta observada para la masa de huevos en la línea IC era apreciable y significativamente distinta de cero. Aunque este carácter no fue medido en la línea IR hasta la generación 5, el valor medio en esta generación no era significativamente diferente al valor inicial, mostrando que no puede conseguirse respuesta en la masa de huevos si la selección se basa exclusivamente en los pesos, debido a la ausencia de correlación entre pesos y puesta.

La eficiencia esperada del índice reducido era 0,51 (Tabla 1), tanto en la generación inicial como en la generación final del experimento. La misma eficiencia debería esperarse si los efectos del muestreo y de la consanguinidad no fueran tenidos en cuenta. El valor observado en el experimento está en clara concordancia con el valor esperado, tanto en la generación inicial como en la final, cuando los parámetros genéticos pueden haber cambiado debido a la selección y a la deriva. La heredabilidad

realizada (regresión de las medias en cada generación sobre el diferencial de selección acumulado), fue mayor en la línea IC (0,63 ± 0,05) que en la línea IR (0,37 ± 0,16), siendo significativamente distinta de cero sólo en la primera. La heredabilidad del índice estimada en la población base (Lin y Allaire, 1977: Theor. Appl. Genet. 51, 1-3; Nordskog, 1978: Theor. Appl. Genet. 52, 91-94) era 0,57 para el índice completo, y 0,49 para el índice reducido. Las intensidades de selección observadas fueron similares en ambas líneas (1,26 y 1,21, respectivamente), y no muy distintas del valor esperado (1,39).

Los resultados obtenidos con el índice reducido están en concordancia con los resultados teóricos obtenidos por Gjedren (1967) y Sivanadian y Smith (1997) para el índice aumentado, con correlaciones genéticas y fenotípicas entre el carácter añadido y los restantes igual a cero, y heredabilidades altas y similares de todos los caracteres. En general, el cambio en respuesta será mayor cuando el carácter añadido o eliminado tiene heredabilidad alta, y correlaciones negativas con los restantes. Parratt y Simm (1987) obtuvieron ritmos de respuesta similares con ambos índices, en concordancia con la baja heredabilidad del carácter, y la alta y positiva correlación con los restantes, aunque los resultados de Simm y col. (1987) no concordaban con los esperados. Hovenier y col. (1994) obtuvieron un 90% de eficiencia para el índice reducido, en discordancia con la alta heredabilidad del carácter, y correlaciones medias no significativamente distintas de cero. La disminución moderada en eficiencia obtenida por Amer y col. (1998) para un índice reducido, estaba en concordancia con los valores medio-bajos de la heredabilidad y los de las correlaciones genéticas y fenotípicas de su estudio.

TABLA 1. Respuestas observadas por línea y generación, y respuestas esperadas en la generación inicial y en la final [1] (IC = índice completo, IR = índice reducido)

Carácter	Línea	Observada	Inicial	Final
Objetivo selección	IC	2,24 ± 0,12[a]	5,55	3,87 (4,38)
	IR	1,16 ± 0,08[b]	2,83	1,96 (2,27)
Peso 21 d	IC	0,66 ± 0,04[a]	0,88	0,61 (0,69)
	IR	0,72 ± 0,07[a]	1,73	1,20 (1,39)
Peso 31 d	IC	0,37 ± 0,05[a]	0,56	0,39 (0,44)
	IR	0,44 ± 0,04[a]	1,10	0,76 (0,88)
Masa de huevos	IC	1,21 ± 0,10	4,11	2,87 (3,25)

[1] Respuesta esperada teniendo en cuenta sólo el efecto Bulmer entre paréntesis
[ab] Los valores dentro de un carácter con distinto superíndice difieren entre sí ($P < 0,01$)

RESPUESTA A LA SELECCIÓN POR TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. I. COMPONENTES DEL TAMAÑO DE CAMADA

García, M.L.[1]; Baselga, M.[2]; Lavara, R.[2]; Vicente, J.S.[2]
[1]Dpto. Tecnología Agroalimentaria.U.M.H. Ctra Beniel Km. 3.2. Orihuela 03312.
[2]Dpto. de Ciencia Animal. U.P.V.Camino de Vera 14, Apdo 22012. Valencia 46071

INTRODUCCIÓN

Las líneas maternales de conejo tienen, comúnmente, como criterio de selección el tamaño de camada (Estany *et al*, 1989, Gómez *et al*, 1996, Rochambeau *et al*, 1994). En algunos casos experimentalmente, se ha planteado la selección indirecta del tamaño de camada a través de la capacidad uterina (Bolet *et al*, 1994). Sin embargo no existen en la bibliografía experiencias de selección por componentes del tamaño de camada en conejo, aunque si han sido descritas en ratón (Land y Falconer, 1969; Bradford, 1969) y en cerdo (Bidanel *et al*,1996 y Johnson *et al*, 1984). En todas estas experiencias se ha estimado la respuesta a la selección haciendo uso de una población control sin seleccionar, por selección divergente o estimando la tendencia genética como media de los valores aditivos por generación utilizando toda la información del criterio de selección y las relaciones de parentesco durante todo el proceso de selección.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la respuesta en los componentes del tamaño de camada cuando se selecciona por el número de destetados, pero haciendo uso de las técnicas reproductivas que permiten el estudio coetáneo de dos grupos de animales distantes un cierto número de generaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las hembras utilizadas en esta experiencia pertenecían a la línea A que comenzó a seleccionarse por tamaño de camada al destete en 1980 en la Universidad Politécnica de Valencia mediante un índice familiar con información variable (Baselga *et al*, 1984). En la actualidad se encuentra en la generación 26, y un total de 68 hembras de esta generación constituyen lo que llamaremos grupo actual (A26), 58 de las cuales provienen de montas y partos naturales y 10 de embriones vitrificados. En el año 1992 se crioconservaron embriones de la generación 17 para ser desvitrificados y transferidos en 1998. Los resultados de las transferencias pueden encontrarse en García *et al* (2000 b). El grupo de referencia (A17) estaba constituido por 17 hembras provenientes de estos embriones y 37 hembras obtenidas de la multiplicación de las hembras anteriores con 11 machos de la generación 17, y por tanto obtenidas de montas y partos naturales.

A los 12 días de la segunda y la tercera gestación de las conejas se realizó una laparoscopía. Las variables estudiadas fueron la tasa de ovulación (OR), el número de embriones implantados (NIE), el número de fetos muertos (NDF), la supervivencia embrionaria (ES= NIE/OR); la supervivencia fetal (FS =LS/NIE, siendo LS el tamaño total de la camada al nacimiento) y la supervivencia prenatal (PS = LS/OR).

Las variables se analizaron con el modelo lineal mixto siguiente:

$y_{ijklm} = \mu + GRUPO_i + VIT_j + AE_k + EF_l + a_m + p_m + e_{ijklm}$, donde:

y_{ijklm} es la variable a analizar, μ es la media general de la población, $GRUPO_i$ es el efecto fijo grupo, con dos niveles grupo actual (A17) y grupo de referencia (A26), VIT_j es el efecto fijo que identifica el efecto de la vitrificación, con dos niveles: 1 para hembras que proceden de embriones vitrificados y 2 para

hembras que proceden de montas y partos naturales, AE_k es el efecto fijo año-estación con 5 niveles, EF_l es el estado fisiológico de la coneja, con dos niveles (segunda y tercera gestación), a_m es el valor aditivo de la hembra, p_m es el efecto permanente no aditivo y ambiental de la hembra sobre todos sus partos, e_{ijklm} es el error del modelo.

Las estimas de los efectos fijos de los modelos para los caracteres reproductivos se realizaron con metodología BLUP, teniendo en cuenta en la matriz de parentesco únicamente la generación anterior. La estima de la respuesta a la selección se realizó como diferencia entre las estimas de los niveles del efecto fijo grupo, A26-A17. El programa informático utilizado fue el PEST (Groeneveld, 1990). Los componentes de varianza utilizados para los caracteres prenatales se indican en la tabla 1.

Tabla 1.- Componentes de varianza para los caracteres prenatales.

Parámetros	OR	NIE	NDF	ES	FS	PS
h^2	0.35	0.20	0.15	0.10	0.05	0.15
p^2	0.05	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10

h^2, heredabilidad; p^2, cociente entre varianza de efectos permanentes no aditivos y fenotípica. OR, tasa de ovulación; NIE, número de embriones implantados; NDF, número de fetos muertos; ES, supervivencia embrionaria; FS, supervivencia fetal, PS, supervivencia prenatal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Para los caracteres comprendidos desde la ovulación hasta el nacimiento se realizaron 208 laparoscopías a los 12 días de la segunda y de la tercera gestación en las hembras de la generación 17 y de la generación 26. Los principales parámetros que describen los caracteres que se estudiaron se indican en la tabla 2. Los valores son inferiores a los obtenidos con la misma metodología de trabajo para la línea V (García *et al*, 2000a). Sin embargo en estudios anteriores comparativos, ambas líneas obtenían valores similares para la tasa de ovulación (13.8±0.3 para la línea A y 13.9±0.3 para la línea V, $P<0.05$) pero eran inferiores a otra línea seleccionada por velocidad de crecimiento (14.8±0.3, Viudes de Castro *et al*, 1995).

Tabla 2.- Parámetros descriptivos de los caracteres prenatales en la línea A.

Carácter	OR	NIE	NDF	ES	FS	PS
Datos	205	208	176	205	176	173
Max	19	18	12	1	1	1
Min	7	2	1	0.17	0.11	0.10
Media	12.6	11.3	2.5	0.90	0.78	0.70
σ	2.2	2.7	2.4	0.16	0.20	0.21

Tasa de ovulación (OR); número de embriones implantados (NIE); número de fetos muertos (NDF); supervivencia embrionaria (ES); supervivencia fetal (FS); supervivencia prenatal (PS).

En la tabla 3 y 4 se indica la respuesta correlacionada en la tasa de ovulación, número de embriones implantados, número de fetos muertos, y la supervivencia embrionaria, fetal y prenatal para la línea A. Para ninguno de estos caracteres, este experimento ha podido demostrar que hayan sido modificados por la selección. Por el contrario en la línea V (García *et al*, 2000 a) se demostró una respuesta correlacionada en la tasa de ovulación. Actualmente hay en curso una experiencia de mayores dimensiones que estudia el tamaño de camada desde el nacimiento hasta el destete en cuatro granjas diferentes. Los resultados de esta experiencia si no son significativos para el tamaño de camada al nacimiento serán concordantes con los de este experimento y si lo son indicarán que el experimento que estamos analizando ha tenido una dimensión insuficiente para dar como significativas las diferencias existentes.

En las experiencias de selección directa por tamaño de camada las respuestas se han producido principalmente por un aumento de la tasa de ovulación, no solamente en conejo sino también en porcino y ratón (Pérez-Enciso y Bidanel, 1997). En el caso de la selección divergente por capacidad uterina en conejo las respuestas se han demostrado en el número de embriones implantados, en la supervivencia embrionaria y en el tamaño de camada al nacimiento pero no al destete (Santacreu *et al*, 2000). Sin embargo cuando la selección del tamaño de camada se ha realizado indirectamente a través de la tasa de ovulación la respuesta correlacionada en el tamaño de camada no se ha producido.

Tabla 3.- Respuesta en los componentes del tamaño de camada (I).

Carácter	OR	NIE	NDF
A26-A17	0.03 ± 0.49	-0.15±0.54	-0.63±0.51

Contraste y error estándar entre el grupo actual y el grupo de referencia (A26-A17); tasa de ovulación (OR), número de embriones implantados (NIE), número de fetos muertos (NDF).

Tabla 4.- Respuesta en los componentes del tamaño de camada (II).

Carácter	ES (%)	FS (%)	PS (%)
A26-A17	-1.44±2.87	5.7 ± 3.7	3.7 ± 4.58

Contraste y error estándar entre el grupo actual y el de referencia (A26-A17); supervivencia embrionaria (ES), supervivencia fetal (FS) y supervivencia prenatal (PS).

BIBLIOGRAFIA

BASELGA, M.; BLASCO, A.; ESTANY, J.1984. 3rd World Rabbit Congress, vol I:62-65. Roma, Italia.

BIDANEL, J.P.; BLASCO, A.; GOGUÉ, J.; LAGANT, H. 1996. 28 J. de la Recherche Pocine en France, 28:1-8.

BOLET, G.; SANTACREU, M.A.; ARGENTE, M.J.; CLIMETN,A.; BLASCO, A. 1994. 5th World Congrees on Genetics Apllied to Livestock Production, 19: 261.

BRADFORD, G.E.1969. Genetics, 61: 905-921.

ESTANY, J.; BASELGA, M.; BLASCO, A. CAMACHO, J.1989. Livest. Prod. Sci., 21: 67-75.

GARCÍA, M.L.; BASELGA, M.; VICENTE, J.S.; LAVARA, R. 2000a.7th World Rabbit Congress, Vol A: 381-388. Valencia-Spain.

GARCÍA, M.L.; VIUDES DE CASTRO, M.P.; VICENTE, J.S.; BASELGA, M. 2000b.7th World Rabbit Congress, Vol A: 143-146. Valencia-Spain.

GÓMEZ, E.A.; RAFEL, O.; RAMON, J.; BASELGA, M. 1996.6th World Rabbit Congress, 2:289-292. Toulouse-France.

GROENEVELD, E. 1990. 5th Wordl Congress on Genetics Applied to Livestock production, 22: 47-48.

JOHNSON, R.K.; ZIMMERMAN, D.R.; KITTOK, R.J. 1984. Livest. Prod. Sci. 11: 541-558.

LAND, R.B.; FALCONER, D.S.1969. Genet. Res. Camb., 13: 25-46.

PEREZ-ENCISO, M.; BIDANEL, J.P. 1997. Genet.Sel. Evol., 29: 483-496

ROCHAMBEAU, H. de.; BOLET, G.; TUDELA, F. 1994. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 19:257-26. Guelph.

SANTACREU, M.A.; ARGENTE, M.J.; MOCÉ, M.L.; BLASCO, A.2000. 7th World Rabbit Congress, Vol A: 491-495. Valencia-Spain.

VIUDES DE CASTRO, M.P.; GARCÍA-XIMÉNEZ, F.; VICENTE, J.S. 1995. Investigación agraria. Producción y Sanidad Animales. Vol 10(2).

INTERACCIÓN GENOTIPO X FOTOPERÍODO PARA CARACTERES RELACIONADOS CON EL ESTRÉS EN GALLINAS PONEDORAS

S. García Dávila y J.L. Campo
Departamento de Genética y Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

Los efectos de la duración, la intensidad, y el color de la luz sobre el nivel de estrés en las aves son relativamente poco conocidos. En la industria del pollo de carne, los animales se crían normalmente en un programa de luz continua o casi continua para poder maximizar el ritmo de crecimiento. En la industria de la gallina de puesta, la selección para intervalos cortos entre grupos consecutivos de huevos podría usarse para aumentar el ritmo de puesta (Yoo y col., 1986). Sin embargo, desde el punto de vista del bienestar de los animales mantenidos en cautividad, es necesario un programa con horas de luz y horas de oscuridad alternativas. Esto se debe a que los programas de luz continua o casi continua pueden aumentar la incidencia de anomalías en las patas (Buckland y col., 1976), reducir la capacidad del animal para resistir situaciones de estrés (Blokhuis, 1983), y aumentar la incidencia de anomalías oculares ((Whitley y col., 1984).

Sólo unos pocos y contradictorios estudios han examinado el efecto de los programas de luz sobre el estrés fisiológico, en pollos de carne, utilizando como indicadores el aumento en la concentración de corticosterona en el plasma sanguíneo, o el incremento en el valor del cociente entre heterófilos y linfocitos. Ningún estudio ha analizado el efecto del fotoperíodo sobre el estrés psicológico, utilizando como indicador el incremento en la duración de la inmovilidad muscular inducida. Buckland y col. (1976) encontraron mayores concentraciones de corticosterona en los pollos alojados en condiciones de luz continua que en los pollos sometidos a un programa de luz intermitente (1 hora de luz : 3 horas de oscuridad). Freeman y col. (1981) no encontraron diferencias en concentración de corticosterona al comparar luz continua y 12 luz : 12 oscuridad. Renden y col. (1994) tampoco encontraron diferencias en corticosterona entre luz casi continua (23 luz : 1 oscuridad) y luz intermitente (1 luz : 3 oscuridad). Vo y col. (1998) encontraron que la luz continua producía un incremento significativo en el cociente de leucocitos. El objetivo de este estudio fue analizar el efecto del programa de luz sobre el cociente de leucocitos y la duración de la inmovilidad muscular en diferentes razas de gallinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio del cociente de leucocitos, se utilizaron tres razas españolas de gallinas de muy distinta componente genética: Castellana Negra (ponedora ligera de huevo blanco), Prat Leonada (ponedora ligera de huevo crema), y Vasca Roja Barrada (ponedora semipesada de huevo marrón. Para el estudio de la inmovilidad muscular, se utilizó la Castellana Codorniz, una raza sintética obtenida del cruce entre la Castellana Negra y la Prat Leonada (Campo y Orozco, 1986). Todas ellas se mantienen en la granja avícola de El Encín, dentro del programa de conservación iniciado por el INIA en

1975 (www.inia.es/sitemapa/pags/bib). Las aves se alojaron en gallineros genealógicos con 36 semanas de edad. Las del primer estudio se sometieron durante 15 días a tres tratamientos de luz: 23 horas de luz y 1 hora de oscuridad (23:1), 14:10 o 18,5:5,5, analizando un total de 162 aves (18 gallinas por raza y tratamiento). Las aves del segundo estudio se sometieron durante 15 días a dos tratamientos de luz (23:1 o 14:10), analizando un total de 48 aves (24 gallinas por tratamiento).

El cociente entre heterófilos y linfocitos se calculó a partir de 100 leucocitos, incluyendo granulares (heterófilos, basófilos y eosinófilos) y no granulares (linfocitos y monocitos). Para la tinción se siguió el método indicado por Lucas y Jamroz (1961), con los colorantes May-Grünwald y Giemsa. La duración de la inmovilidad muscular se midió por el procedimiento de Jones and Faure (1981), colocando el ave sobre su espalda y con la cabeza fuera en una cuna de madera.

En el estudio del cociente de leucocitos, se utilizó un análisis de varianza de dos factores fijos (tratamiento de luz y raza), según el modelo: $y_{ijk} = m + L_i + R_j + LR_{ij} + e_{ijk}$. Cuando el análisis de varianza daba significación, las diferencias entre medias se analizaban por el método secuencial de Student-Newman-Keuls. En el estudio de la inmovilidad muscular se utilizó la prueba *t* de Student. La transformación raíz cuadrada se usó en el caso del cociente, y la transformación logarítmica en el caso de la inmovilidad muscular, previamente al análisis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el cociente de leucocitos y para el número de heterófilos, no hubo diferencias significativas entre tratamientos de luz (Tabla 1), ni debidas a la interacción raza x tratamiento, sugiriendo que las horas de luz casi continuas no producían un estrés severo en ningún genotipo, ni influían en el bienestar del animal. La ausencia de interacción significativa da mayor valor a los resultados obtenidos para la comparación entre programas de luz, al ser las tres razas utilizadas de amplia base genética. Había diferencias significativas entre razas, con el valor correspondiente a la Vasca significativamente mayor que el de las otras razas. Para el número de linfocitos, no había diferencias significativas de ningún efecto.

Los resultados concuerdan con los de Freeman y col. (1981) y con los de Renden y col. (1994), si bien el indicador utilizado por estos autores (incremento del nivel de corticosterona) es más adecuado para las situaciones de estrés agudo. Por el contrario, los resultados no concuerdan con los de Vo y col. (1998), si bien la heterofilia y la linfopenia encontrada por estos autores se refiere a luz continua aplicada a pollos de carne comerciales durante las tres primeras semanas de edad.

Para la duración de la inmovilidad muscular, había diferencias significativas entre los dos tratamientos de luz. El valor medio correspondiente al tratamiento 23:1 (236 ± 32 s) era significativamente mayor que el correspondiente al tratamiento 14:10 (137 ± 32 s), sugiriendo que las horas de luz casi continuas producían estrés psicológico (aumento del miedo) en las aves. Desde un punto de vista práctico, estos resultados sugieren que los programas de luz casi continua no deberían utilizarse en la obtención de gallinas ponedoras selectas, con valores de puesta más cercanos a su límite biológico (1 huevo cada 24 horas).

TABLA 1. Efecto de las horas de luz y de la raza sobre el cociente entre heterófilos y linfocitos (H/L), el número de heterófilos (H), y el número de linfocitos (L)

Raza	H/L	H	L	Luz	H/L	H	L
Castellana	0,56[b]	28,35[b]	57,15[a]	23:1	0,56[a]	28,94[a]	56,63[a]
Prat	0,56[b]	28,48[b]	54,65[a]	14:10	0,62[a]	29,96[a]	54,91[a]
Vasca	0,70[a]	32,69[a]	52,69[a]	18,5:5,5	0,63[a]	30,61[a]	52,94[a]
CME	0,11	83,18	111,91				

[ab]Los valores de la misma columna con diferente superíndice difieren significativamente

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blokhuis H.J. (1983) The relevance of sleep in poultry. World,s Poult. Sci. J. 39, 33-37.

Buckland R.B., Bernon D.E., Goldrosen A. (1976) Effect of four lighting regimes on broiler performance, leg abnormalities and plasma corticoid levels. Poult. Sci. 55, 1072-1076.

Campo J.L., Orozco F. (1986) Genetic basis of the Melanotic Prat phenotype. Br. Poult. Sci. 27, 361-367.

Freeman B.M., Manning A.C., Flack I.H.(1981) Phptoperiod and its effect on the responses of the immature fowl to stressors. Comp. Biochem. Physiol. 68, 411-416.

Lucas A.M., Jamroz C. (1961) Atlas of Avian Hematology. Agriculture Monograph 25, USDA, Washington, DC.

Jones R.B., Faure J.M. (1981) Sex and strain comparisons of tonic immobility in the domestic fowl and the effects of various methods of induction. Behav. Proc. 6, 47-55.

Renden J.A., Lien R.J., Oates S.S., Bilgili S.F.(1994) Plasma concentrations of corticosterone and thyroid hormones in broilers provided various lighting schedules. Poult. Sci. 73, 186-193.

Vo K.V., Burgess C., Adefope N.A., Catlin C., Wakefield T.(1998) Effects of lighting regime and feed restriction for various durations on growth performance, leg abnormalities and hemo-stress response of broilers. Poult. Sci. 77(1), 3.

Whitley R.D., Albert R.A., Brewer R.N., McDaniel G.R., Pidgeon G.L., Mora E.C. (1984) Photoinduced buphthalmic avian eyes. 2. Continuous darkness. Poult. Sci. 64, 1869-1874.

Yoo B.H., Sheldon B.L., Podger R.N.(1986) Analyses of oviposition times and intervals in a wide range of layer flocks under normal and continuous lighting regimes. Br. Poult. Sci. 27, 267-288.

ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA, ESTRADIOL Y COLESTEROL DURANTE LA IMPLANTACIÓN EMBRIONARIA EN DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DE FORMA DIVERGENTE POR CAPACIDAD UTERINA EN CONEJO. PRIMEROS RESULTADOS.

Mocé, M. L., Climent, A., Blasco, A., Santacreu, M. A.

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia.
22012. Camino de Vera, 14. 46071 Valencia.
mamocer@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

Se dispone de dos líneas que presentan un número de embriones implantados notablemente diferente (2.10 embriones) (Santacreu *et al.,* 2000). Esta diferencia parece no deberse ni a la tasa de ovulación (Santacreu *et al.,* 2000), ni a la tasa de fecundación (Gallego 1997). En un estudio previo tampoco se encontraron diferencias para el número de embriones recuperados a las 30 horas post-coito (Gallego 1997).
El objetivo de este trabajo es estudiar si la concentración de progesterona, estradiol o colesterol en los momentos previos a la implantación, explica estas diferencias en supervivencia embrionaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Las hembras proceden de la generación 11 de dos líneas seleccionadas de forma divergente por capacidad uterina (Blasco *et al.,* 2000). Se utilizaron 32 hembras de la línea de alta capacidad uterina (CU+) y 33 de la línea de baja capacidad uterina (CU-).
Caracteres: Los animales se sacrificaban 6 días después de la monta. Las muestras de sangre se recogieron en el momento del sacrificio. Los caracteres analizados fueron: Tasa de ovulación (TOT) y número de embriones (EMT). Se calculó la supervivencia embrionaria hasta el día 6 de gestación, (SUP), como EMT/TOT. Se analizaron los niveles circulantes de progesterona (Pr), 17• estradiol (17•) y colesterol (Co). La Pr fue analizada con un enzimoinmunoanálisis heterogéneo competitivo de no equilibrio con separación mediante partículas magnéticas y lectura fotométrica cinética. El 17• fue determinado usando un kit comercial de DRG Diagnostics (EIA-2693), basado en un ELISA de tipo competitivo y empleando un anticuerpo policlonal. Para determinar Co (libre + esterificado) se usó un autoanalizador COBAS MIRA de ROCHE que emplea el método enzimático CHOD-PAP.
Análisis estadísticos: El modelo utilizado para estimar las medias por mínimos cuadrados de los caracteres TOT, EMT, SUP, Co, Pr y 17• incluyó los siguientes efectos: línea con dos niveles (CU+ y CU-), estación con 2 niveles (primavera-verano, invierno) y lactación con dos niveles: hembras no lactantes (hembras que en el momento de ser llevadas a sacrificio no tienen gazapos) y hembras lactantes. Además, se realizaron análisis de regresión para estudiar la relación entre Pr, 17• y Co. Así mismo, también se estudió la relación entre Pr y 17• con TOT y EMT. El programa estadístico usado fue el GLM del paquete estadístico SAS (SAS 1997).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambas líneas presentan tasas de ovulación similares (15.16 para la línea CU+ y 14.42 para la línea CU-), (Tabla 1). Para el número de embriones recuperados se observan diferencias significativas entre ambas líneas, con 13.04 embriones recuperados en la CU+ frente a 10.44 embriones en la CU-, (Tabla 1) resultados que corroboran los obtenidos por Santacreu *et al.*, (2000). Para la supervivencia las estimas de las diferencias son relevantes pero no significativas (0.86 para la línea CU+ y 0.74 para la línea CU-). Estos resultados están de acuerdo con las diferencias estimadas en el segundo parto de estos mismos animales por Santacreu *et al.*, 2000.

Los valores medios obtenidos para la progesterona (9 ng/ml), 17• estradiol (28 pg/ml), y colesterol (64 mg/dl) se encuentran dentro del rango de los valores publicados: de 5 ng/ml a 12 ng/ml para la progesterona (Stoufflet *et al.*, 1988; Harrington *et al.*, 1977), de 4 pg/ml a 200 pg/ml en el 17• estradiol (Browning *et al.*, 1980; Firyal S. Khan-Dawood *et al.*, 1984) y de 30 y 85 mg/dl (Favarato y Zatta 1990; Chiericato *et al.*, 2000) para el colesterol. La variabilidad de los resultados publicados puede deberse al protocolo usado en la determinación (Harrington *et al.*, 1977), estado fisiológico de los animales, (Fortun-Lamothe *et al.*,1999; Virad Drouet *et al.*, 1984), edad de los animales (Virad Drouet *et al.*, 1984) o bien al escaso tamaño de muestra usado en los experimentos (alrededor de 5 animales).

Cuando se comparan los valores de Pr, 17• y Co de las dos líneas no se obtienen diferencias significativas ni relevantes (Tabla 1). En ratón sí se encontraron diferencias para los niveles séricos de colesterol al comparar una línea seleccionada por tamaño de camada al nacimiento con una línea control, observando que los animales que pertenecían a la línea seleccionada tenían niveles de colesterol significativamente superiores a los animales de la línea control (Ribeiro *et al.*, 1994)

Tabla 1: Medias por mínimos cuadrados, errores estándar y coeficiente de variación para: Tasa de ovulación (TOT), número de embriones recuperados (EMT), supervivencia embrionaria el día 6 de gestación (SUP), colesterol (Co), progesterona (Pr) y 17• estradiol (17•) para la línea de alta (CU+) y la línea de baja capacidad uterina (CU-).

	CU+				CU-				
	N	**media**	**e.s**	**c.v**	**N**	**media**	**e.s**	**c.v**	**sig**
TOT	28	15.16	0.45	0.13	27	14.42	0.44	0.15	n.s
EMT	24	13.04	1.04	0.27	21	10.44	1.03	0.40	*
SUP	24	0.86	0.07	0.26	21	0.74	0.07	0.39	n.s
Co mg/dl	26	64.08	3.82	0.25	26	64.6	3.62	0.31	n.s
Pr ng/ml	21	8.90	0.5	0.29	23	8.95	0.47	0.25	n.s
17• pc/ml	26	27.45	1.18	0.3	26	27.93	1.11	0.3	n.s

N (número de datos) media, e.s (error estándar), c.v (coeficiente de variación calculado con datos sin corregir).

A pesar de que el colesterol es precursor de las dos hormonas bajo estudio no se encontró relación entre los niveles de Pr y 17• con respecto al Co. Así mismo, aunque a partir del día 5 de gestación el cuerpo lúteo necesita estradiol para seguir produciendo progesterona (Miller y Keyes 1975, 1978) tampoco se obtuvo

correlación entre los niveles séricos de ambas hormonas, resultado que coincide con el obtenido en cerdo (Kesinger *et al.*, 1986).

Tampoco se encontró relación entre la TOT y los niveles de Pr. Si embargo, en cerdos sí se ha observado esa relación (Kesinger *et al.*, 1986); así mismo Boiti *et al.*, observaron diferencias en la concentración de progesterona entre conejas con uno o más de un cuerpo lúteo (Boiti *et al.*, 1996). En nuestro experimento las conejas presentan un mínimo de diez cuerpos lúteos, motivo que podría explicar el no haber encontrado relación.

Por último, tampoco se encontró ninguna relación entre los niveles de 17• o los de Pr con el número de embriones recuperados, lo que coincide con los resultados obtenidos en conejos (Challis *et al.*, 1973) y en cerdos sacrificados al final de la gestación (Kesinger *et al.*, (1986)

El conjunto de resultados indica que las diferencias entre ambas líneas ya se presentan el día 6 de gestación y que los niveles séricos de Pr, 17• y Co, el día 6 de gestación, no parecen explicar la diferencia en mortalidad embrionaria entre las líneas CU+ y CU-.

REFERENCIAS

BLASCO, A., ORTEGA, J.A., SANTACREU, M.A. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 347-352.*

BOITI, C., CANALI, C., MONACI, M., STRADAIOLI, G., VERINI SUPPLIZI, A., VACCA, C., CASTELLINI, C., FACCHIN, E. 1996. *6th World Rabbit Congress. Toulousse 1996. Vol 2: 45-49.*

BROWNING, J. Y., KEYES, L. P., WOLF, R.C. 1980. *Biol. Reprod. 23, 1014-1019.*

CHALLIS, J.R.G, DAVIES, I.J., RYAN, K.J. 1973. *Endocrinology Vol 93 Nº 4 971-976.*

CHIERICATO, G.M., RIZZI, C., RAVAROTTO, L., ZAKARIA, H. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 111-116.*

FAVARATO, M., ZATTA, P. 1990..*J. Appl. Rabbit Res. 13: 14-15.*

FIRYAL S. KHAN-DAWOOD, PH.D., AND M. YUSOFF DAWOOD, M.D. 1984. *Am J Obstet Gynecol. Vol 150, Number 5, Part 1, 450-455.*

FORTUN-LAMOTHE, L., PRUNIER, A., BOLET, G., LEBAS, F., BOYAZOGLU, J., RAFAI, P., THOMAS, C. 1999. *Livestock Production Science. 60: 2-3, 229-241.*

GALLEGO, M. 1997. *Tesis doctoral. U.P.V. Valencia. España.*

HARRINGTON, F.E., ROTHERMEL., J.D. 1977. *Life Sciences. Vol 20, 1333-1340.*

KENSINGER, R.S., COLLIER, R.J., BAZER, F.W., KRAELING, R.R. 1986. *J. Anim. Sci. 62: 1666-1674.*

MILLER, J.B., KEYES, P.L. 1975. *Endocrinology, 97: 83-90.*

MILLER, J.B., KEYES, P.L. 1978. *Endocrinology, 102: 31-38.*

RIBEIRO, ELD., KITTOK, R.J., NIELSEN, M.K. 1994. *J. Anim. Sci. 72 (11): 2943-2947*

SANTACREU, M.A., ARGENTE M.J., MOCE M. L., BLASCO A. 2000. *7th World Rabbit Congress. Valencia 4-7 July 2000. Vol A: 491-496.*

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

STOUFFLET, I., CAILLOL, M. 1988. *J. Reprod. Fert. 82, 209-218.*

VIRAD DROUET, F., PROVOT, F., COUDERT, P. 1984. *3er World Rabbit Congress.Vol II: 543-552.*

ESTIMACIÓN DE LA RESPUESTA A LA SELECCIÓN POR CAPACIDAD UTERINA DE LOS COMPONENTES DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJOS

J.A. Ortega, M.J. Argente, M.A. Santacreu, A. Blasco

Departamento de Ciencia Animal. Universidad Politécnica de Valencia
P.O. Box 22012. Valencia 46071. España
jaortega@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

La selección por tasa de ovulación (TO) no ha sido efectiva para mejorar el tamaño de camada (TC) en especies prolíficas (Blasco et al., 1998). En conejos, Blasco et al. (1994) propusieron al TC de conejas ovariectomizadas unilateralmente como una estimación de la capacidad uterina (CU), en un intento de proponer una forma indirecta de mejorar el TC. Blasco et al. (2000) estimaron la respuesta de un experimento de selección divergente sobre CU y observaron una respuesta simétrica para CU. Santacreu et al. (2000) con conejas no ovariectomizadas y una población control de embriones crioconservados y descongelados en la generación 11 de este experimento, encontraron una respuesta correlacionada asimétrica para TC. Argente et al. (2000) mostraron que los caracteres TC en conejas no ovariectomizadas y CU prácticamente son el mismo carácter con una correlación genética próxima a 1.0, lo que implicaría una respuesta asimétrica para CU en el experimento de Santacreu et al. (2000), contradiciendo los resultados de Blasco et al. (2000). Es posible que la selección produjera una respuesta asimétrica y por lo tanto el modelo usado por Blasco et al. (2000) no fuera el correcto debido a que una parte de los genes que son seleccionados a favor de CU no sean los mismos a aquellos seleccionados en contra. El objetivo de este trabajo es estimar las respuestas genéticas de este experimento de selección divergente sobre CU en conejos, analizando la línea alta y baja por separado.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se desarrolló un experimento de selección divergente para CU en conejo, con 10 ciclos de selección. La generación base se generó de una línea sintética (V) seleccionada para mejorar TC. A las conejas se les removió el ovario izquierdo antes de la pubertad, y una laparoscopia fue practicada 12 días después de la monta en la segunda gestación. La selección por CU se realizó con datos de hasta el cuarto parto, usando la metodología BLUP en un modelo con repetibilidad y efectos fijos el periodo de registro de datos y el número de parto, evaluando las dos líneas simultáneamente. En cada línea hubo en promedio 40 hembras y 12 machos. La totalidad de registros en la línea alta y baja fue de 1648 y 1543, respectivamente.

Se analizó tasa de ovulación (TO), estimada por el número de cuerpos lúteos; número de embriones implantados (ET), estimado por el número de lugares de implantación; capacidad uterina (CU), como tamaño total de la camada. TO y ET se evaluaron solo en el segundo parto y CU en todos los partos.

Los parámetros por línea fueron estimados con la metodología BLUP/REML, usando el programa VCE (Groeneveld, 1994). Se realizaron análisis bivariantes y trivariantes para evitar en lo posible el sesgo debido a la selección, ajustando un modelo animal con repetibilidad para TC y sin repetibilidad para TO y ET. Año-estación y lactación se incluyeron como efectos fijos. La respuesta correlacionada a la selección por CU sobre TO y ET fue estimada como las medias de los valores genéticos predichos en cada generación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla se muestran las estimas de los parámetros genéticos y de sus errores estándar por línea. La heredabilidad para CU y ET aparentemente fue baja en la línea alta. La heredabilidad para TO fue alta en ambas líneas y la correlación genética con CU fue considerablemente alta, indicando que probablemente la selección por TO sea más efectiva en conejos en relación a los resultados obtenidos con la misma en cerdos y ratón (ver Blasco et al., 1998).

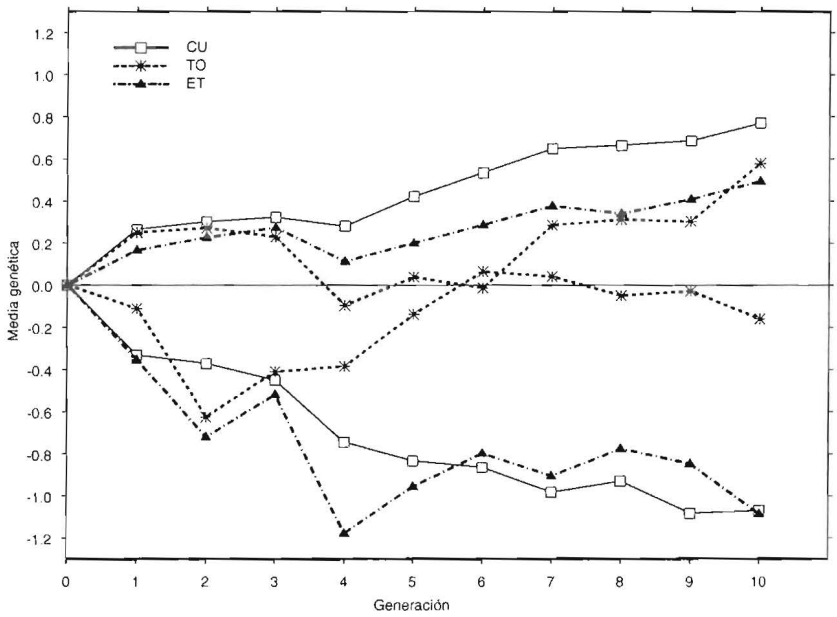
La figura muestra que la respuesta a la selección en CU y ET fue asimétrica, observándose una mayor respuesta en la línea baja. Este resultado difiere del observado por Blasco et al. (2000) y concuerda más con lo encontrado por Santacreu et al. (2000), quienes estimaron una respuesta correlacionada para TC en conejas con los dos cuernos uterinos funcionales de 0.57 y 2.1 gazapos para la línea alta y baja en relación con una población control de embriones crioconservados y descongelados en esta generación.

La respuesta a la selección estimada por el BLUP es muy sensible a las estimas de los componentes de varianza usados (Sorensen y Johanson, 1992). Es posible que las estimas REML en este estudio tengan sesgo debido a que en el proceso de estimación no se incluyeron todos los datos que intervinieron en la selección, al analizar ambas líneas por separado. Sin embargo, probablemente este sesgo sea de una magnitud pequeña ya que se esperaría que la contribución del parentesco de los animales de una línea con la otra no sea importante.

Las razones para estos resultados contradictorios no están muy claras. Puede ser que la selección actuara sobre una parte de genes a favor de CU diferentes a aquellos seleccionados en contra de CU. También, la mayor respuesta para estas características ocurrió en la primera generación, y aún parece que se prolonga hasta la cuarta generación para ET. Esto hace pensar en la posible existencia de un QTL que está controlando la CU. Argente et al. (2001) discuten en estas jornadas esta posibilidad. Si en realidad existe un QTL que se estuviera segregando en la población, las estimas REML aún serían más sesgadas porque la asunción del modelo infinitesimal no sería la correcta.

Parámetros genéticos para capacidad uterina (CU), tasa de ovulación (TO) y número de embriones implantados (ET) en la línea alta y baja. Las heredabilidades en la diagonal, correlaciones genéticas debajo de la diagonal y correlaciones fenotípicas arriba de la diagonal. Errores típicos entre paréntesis.

	Línea alta				Línea baja		
	CU	**TO**	**ET**		**CU**	**TO**	**ET**
CU	.08 (.03)	.08	.58	**CU**	.16 (.04)	.13	.55
TO	.87 (.15)	.34 (.09)	.34	**TO**	.72 (.15)	.29 (.08)	.39
ET	.59 (.29)	.98 (.04)	.09 (.06)	**ET**	.56 (.15)	.93 (.09)	.31 (.08)



Tendencias genéticas de capacidad uterina (CU), tasa de ovulación (TO) y número de embriones implantados (ET) para la línea alta y baja.

REFERENCIAS

Argente M.J., Santacreu M.A., Climent A., Blasco A. 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia, 4-7 July 2000.

Argente M.J., Ortega J.A., Haley C.S., Visscher P.M., Blasco A. 2001. ITEA Vol Extra 21(1)

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

Blasco A., Sorensen D., Bidanel J.P. 1998. *Genetics.* **149**:301-306.

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

Groeneveld E. 1994. 5th World Congress on Genetics Applied to Animal Production. Guelph. Vol. **22**:47.

Santacreu M.A., Argente M.J., Moce M.L., Blasco A. 2000. 7th World Rabbit Congress. Valencia, 4-7 July 2000.

Sorensen, D.A., Johanson, K. 1992. *J. Anim. Sci.* **70**:2038-2044.

EVOLUCIÓN DE LA VARIABILIDAD GENÉTICA A NIVEL MOLECULAR EN UNA RAZA OVINA SOMETIDA A SELECCIÓN: LA RAZA MANCHEGA

Pérez, E.M., Lozano, J.M., Bouzada, J.A., Gallego, R.*, Pérez-Guzmán, M.D. y Montoro, V.
CERSYRA. Consejería de Agricultura y Medio Ambiente de Castilla-La Mancha.
Avda. del Vino, 6. 13.300 Valdepeñas (Ciudad Real) lpcersyra@jccm.es
*AGRAMA Ctra. Madrid s/n. 02.080 Albacete

INTRODUCCIÓN

La puesta en marcha de un esquema de selección genética lleva consigo, entre otras cosas, la necesidad de establecer unos índices de selección que den como resultado un progreso genético importante, pero manteniendo a su vez unos niveles de diversidad genética adecuados. La caracterización genética de estos animales permitirá corregir asignaciones incorrectas de paternidad, así como conocer los niveles de variabilidad genética a nivel molecular existentes en la población y diseñar los apareamientos más adecuados para su mantenimiento.

En el presente estudio se han analizado 4.478 animales de raza Manchega, nacidos entre los años 1988 y 2000. Con ello se pretende estudiar cómo está afectando el esquema de selección al que está siendo sometida esta raza, a la diversidad alélica y a las frecuencias genotípicas de dos proteínas sanguíneas, que no están siendo objeto de selección, así como 10 secuencias genómicas presuntamente neutras, como son los microsatélites de ADN.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal: La muestra consistió en 4.478 animales procedentes de 73 ganaderías pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de Raza Manchega, divididos en 10 grupos según el año de nacimiento. Los animales nacidos con anterioridad al año 1991 fueron estudiados conjuntamente. El número de animales analizados en cada año queda desglosado en la tabla 1.

Tabla 1. Animales analizados por año.

Año	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
Animales	179	125	229	344	405	435	362	607	1.013	779

Muestras biológicas: Consistieron en suero sanguíneo y leucocitos de los animales objeto de estudio.

Electroforesis de proteínas: se utilizó el método descrito por Garzón *et al.* (1991). En el presente estudio sólo se analizaron hemoglobina y transferrina.

Extracción de ADN: Se obtuvo de muestras de sangre enriquecidas en leucocitos empleando el procedimiento de Miller *et al.* (1988).

PCR: Fueron llevadas a cabo en 3 reacciones "Multiplex" (Bragança *et al.*, 1999) y una simple. El programa de amplificación usado fue el siguiente: 4 minutos a 94° C., 32 ciclos de 30 segundos' a 94° C, 45 segundos a 58° C y 1 minuto a 72° C y para finalizar 4 minutos a 72° C. La reacción de amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 10 µl (5µl de DNA patrón, 1 µl Tampón 10X, 0.4 µl de dNTPs 2 mM cada uno de ellos, 0.2 µl cada uno de los cebadores 16 µM, 0.2 µl de RedTaqTM polimerasa de Pharmacia (1 Unidad/µl) y 2.2 µl de H2O MilliQ) utilizando un

GeneAmp PCR System 9600 de Perkin-Elmer. Los microsatélites amplificados, así como el cromosoma en el que se encuentran y el número de alelos detectados en cada uno de ellos, quedan reflejados en la tabla 2.

Tabla 2. Localización cromosómica y número de alelos encontrados en los microsatélites analizados.

LOCI	BM 143	BM 8125	CSSM 031	ILSTS 005	INRA 006	CSSM 066	ILSTS 011	MCM 53	RM 006	BM 6526
LOCALIZACIÓN CROMOSÓMICA	6	17	23	7	1	9	9	6	5	26
NÚMERO DE ALELOS	16	8	20	9	13	19	9	13	8	10

Electroforesis de ADN: Las muestras consistieron en 3 µl del producto de PCR y 3 µl de formamida, se desnaturalizan a 94° C y se enfrían en hielo durante 3 minutos. La migración se llevó a cabo en un gel de secuenciación (4.25 % poliacrilamida. 7M urea) durante 4-5 horas en un secuenciador automático ALF express DNA sequencer de Pharmacia Biotech. Los resultados fueron analizados con el Fragment ManagerTM 1.2 de Pharmacia Biotech.

Información generada: La variabilidad genética fue estimada analizando las frecuencias alélicas y genotípicas así como el grado de heterocigosis a lo largo de los distintos años, para cada uno de los doce loci estudiados, empleando para ello la versión actualizada (mayo de 2000) del software de genética de poblaciones Genepop (Raymond *et al.*, 1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3 se reflejan los valores de heterocigosis observada y esperada para cada uno de los doce loci estudiados en los diez años en los que se dividió la muestra.

El nivel de significación utilizado fue del 5% ($p<0,05$), o del 1% ($p<0,01$) dependiendo de los casos. No ha sido detectado en ninguna ocasión un exceso significativo de heterocigotos. En la tabla 3 aparecen destacados los casos en los que el defecto de heterocigotos resultó estadísticamente significativo. Se observa que este defecto se concentra en tres loci mayoritariamente: ILSTS005, ILSTS011 y BM143, localizados en los cromosomas 7, 9 y 6 respectivamente.

Resulta interesante el hecho de encontrar estas desviaciones entre los heterocigotos esperados y observados en el locus BM143, cuya ubicación en el mapa de ligamiento del cromosoma 6 ovino es muy próxima a la de los loci codificadores de las caseínas (Maddox *et al.*, 1996) y que ha sido relacionado, en vacuno lechero, con cantidad de leche, Kg de grasa y porcentaje de proteína, por diversos autores (Zhang *et al.*, 1998 y Mosig *et al.*, 1998). En el locus McM53, también situado en el cromosoma 6, no se ha detectado un déficit de heterocigotos tan manifiesto, por lo que podría ser objeto de estudio para trabajos posteriores el situar nuevos marcadores genéticos en esa zona.

En cuanto a la variabilidad alélica encontrada, no se constata una pérdida de alelos evidente con el paso de los años (Pérez *et al.*, datos no publicados), lo que hace pensar que a pesar de la selección genética a la que se encuentra sometida la raza, no se está perdiendo, por el momento, variabilidad genética a nivel molecular.

Tabla 3. Heterocigosis observadas (HeO) y esperadas (HeE).

		Hb	Tf	BM 143	BM 8125	CSSM 031	ILSTS 005	INRA 006	CSSM 066	ILSTS 011	MCM 53	RM 006	BM 6526
	HeO	39	138	89	42	52	40	19	53	31	8	6	9
1991	HeE	39,19	128,91	100,53	41,94	55,86	44,98	22,3	56,32	26,31	8,87	5,62	10,76
	Δ	0,19 n.s.	-9,09n.s.	11,53**	-0,06 n.s.	3,86 n.s.	4,98 n.s.	3,3 n.s.	3,32 n.s.	-4,69 n.s.	0,87*.	-0,38 n.s.	1,76 n.s.
	HeO	29	88	67	33	42	34	17	51	26	6	7	8
1992	HeE	32,53	87,76	72,88	32,89	42,7	36,07	18,03	49,3	28,35	6,23	5,69	5,88
	Δ	3,53 n.s.	-0,24 n.s.	5,88**	-0,11 n.s.	0,70 n.s.	2,07 n.s.	1,03 n.s.	-1,7 n.s.	2,35 n.s.	0,23 n.s.	-1,31 n.s.	-2,12 n.s.
	HeO	58	163	117	78	111	92	32	113	55	25	11	21
1993	HeE	54,73	166,33	121,11	81,83	108,9	93,24	32,11	114,72	57,32	23,76	8,71	24,96
	Δ	-3,27 n.s.	3,33 n.s.	4,11 n.s.	3,83 n.s.	-2,10 n.s.	1,24 n.s.	0,11 n.s.	1,72 n.s.	2,32*	-1,24 n.s.	-2,29 n.s.	3,96*.
	HeO	78	235	155	122	159	137	52	164	89	39	14	35
1994	HeE	76,09	246,55	153,63	124,17	169,31	146,13	55,72	162,78	92,15	34,7	15,23	36,88
	Δ	-1,91 n.s.	11,55*.	-1,37 n.s.	2,17 n.s.	10,31 n.s.	9,13*	3,72 n.s.	-1,22 n.s.	3,15 n.s.	-4,30 n.s.	1,23 n.s.	1,88 n.s.
	HeO	100	279	159	181	242	205	66	233	115	49	24	53
1995	HeE	102,08	286,59	165,2	179,02	246,64	207,39	71,07	243,77	128,8	45,57	26,94	41,35
	Δ	2,08 n.s.	7,59 n.s.	6,20**	-1,98 n.s.	4,64 n.s.	2,39 n.s.	5,07 n.s.	10,77**	13,80**	-3,43 n.s.	2,94 n.s.	-11,65 n.s.
	HeO	88	279	141	228	295	246	92	300	161	67	39	76
1996	HeE	86,27	271,78	137,06	227,8	313,34	270,78	91,5	303,06	166,37	66,4	37,81	70,26
	Δ	-1,73 n.s.	-7,22 n.s.	-3,94 n.s.	-0,20 n.s.	18,34 n.s.	24,78**	-0,50 n.s.	3,06 n.s.	5,37**	-0,60 n.s.	-1,19 n.s.	-5,74 n.s.
	HeO	80	196	107	201	277	236	87	262	130	113	49	109
1997	HeE	79,47	194,9	106,35	203,83	287,57	243,75	85,89	265,59	145,07	109,1	54,17	108,3
	Δ	-0,53 n.s.	-1,10 n.s.	-0,65 n.s.	2,83 n.s.	10,57 n.s.	7,75 n.s.	-1,11 n.s.	3,59 n.s.	15,07**	-3,90 n.s.	5,17*	-0,70 n.s.
	HeO	141	393	358	149	196	174	24	184	104	110	70	102
1998	HeE	133,1	393,44	361,63	146,08	194,35	171,15	24,12	185,81	103,04	106,46	74,04	100,25
	Δ	-7,90 n.s.	0,44 n.s.	3,63**	-2,92 n.s.	-1,65 n.s.	-2,85 n.s.	0,12 n.s.	1,81 n.s.	-0,96 n.s.	-3,54 n.s.	4,04 n.s.	-1,75 n.s.
	HeO	235	698	280	557	810	636	294	829	369	34	19	39
1999	HeE	244,75	697,42	296,18	568,55	827,19	682,61	285,56	838,22	386,55	30,79	18,69	37,23
	Δ	9,75 n.s.	-0,58 n.s.	16,18*	11,55 n.s.	17,19*	46,61**	-8,44 n.s.	9,22 n.s.	17,55**	-3,21 n.s.	-0,31 n.s.	-1,77 n.s.
	HeO	60	130	125	451	573	503	-	558	291	321	164	302
2000	HeE	56,91	136,28	130,90	442,79	579,23	530,478	-	551,94	300,46	309,30	159,95	290,93
	Δ	-3,09 n.s.	6,28 n.s.	6,9*	-8,21 n.s.	6,23*	27,478*	-	-6,06 n.s.	9,46 n.s.	-11,7 n.s.	-4,05 n.s.	-11,07 n.s.

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alford, R.L.; Hammond, H.; Coto, I.; Caskey, C., 1994. Am. J. Human Genet. 55: 190-195.

Blott, S.C.; Williams, J.L.; Haley, C.S., 1998. Animal Genetics 29: 202-211.

Bragança, P.; Arranz, J.J.; San Primitivo, F., 1999. ITEA 20: 306-308.

Čepica, S.; Wolf, J.; Hojný, J.; Vacková, I.; Schröffel Jr, J., 1995. Animal Genetics 26: 135-140.

Garzón, A.I.; Martínez, J.; Montoro, V., 1990. XXV Jor. de Genética Luso-Españolas. 58.

Hernández, D., 1999. Bovis 99: 39-54.

Maddox, J.F.; Davies, K.P.; Cuthbertson, R., 1996. Animal Genetics 27: 85-86.

Miller. S.A.; Dykes. D.D.; Polesky. H.F., 1988. Nuc. Acids Res.. 16: 1215.

Pemberton, J.M.; Coltman, D.W.; Coulson, T.N.; Slate, J., 1998. Microsattelites, evolution and applications. Oxford University Press: 151-164.

Pérez, E.M.; Bouzada, J.A.; Lozano, J.M.; Acero F.J.; Jiménez-Gamero, I.; Gallego, R.; Montoro, V., 2000. Jornadas Cientificas de la S.E.O.C. XXV: 277-280.

Pepin, L.; Amigues, Y.; Lépingle, A.; Berthier, J.L.; Bensaid, A.; Vaiman, D., 1995. Heredity. 74: 53-61.

Raymond, M.; Rousset, F., 1995. Genepop (updated version 3.2a, 2000): population genetics software for exact tests and ecumenicism. J. Heridity, 86: 248-249.

Tixier-Boichard, M.; Kritchmann, N.; Morisson, M.; Bordas, A.; Hillel, J., 1996. Animal Genetics 27: 163-169.

Zhang, Q. *et al.*, 1998. Genetics 149: 1959-1973.

DIFERENCIAS DE CRECIMIENTO ENTRE DOS LÍNEAS DE GALLINAS DE RAZA PENEDESENCA NEGRA Y UN BROILER.

Villalba, D.; Cubiló, M.D.; Tor, M.; Solanes, X.; Molina, E.; Francesch, A[1]; Estany, J.

Departament de Producció Animal. UdL. Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.
[1] Unitat Genètica Avícola. Centre Mas Bové. IRTA. Apartado 415 43280 Reus

INTRODUCCIÓN

Desde hace años se viene llevando a cabo en la Unidad Genética del IRTA una labor de conservación y selección de la raza de gallinas Penedesenca Negra (Francesch, 1992). El proceso de mejora genética llevado a cabo ha dado lugar a dos líneas, MN y PN.
La línea MN se ha seleccionado en población cerrada para el número de huevos puestos a las 39 semanas de vida y el peso del huevo, y no difiere en crecimiento de la población de partida del 1987 (Francesch, 1992). La línea PN ha sido mejorada y seleccionada por peso vivo y ángulo de pechuga a las 11 semanas de vida.
Esta comunicación se centra en la descripción de las curvas de crecimiento hasta las 20 semanas de vida de las dos líneas de la raza Penedesenca Negra y de un broiler. El objetivo es obtener una primera estimación del orden de magnitud de las diferencias de crecimiento entre estos tipos genéticos en un ambiente controlado y común.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el experimento se utilizaron 9 machos de la línea MN (MNm), 10 machos de la línea PN (PNm), 11 machos broiler (Bm) y 26 hembras broiler (Bh). El número de animales por tipo genético corresponde al tamaño muestral mínimo para detectar diferencias significativas superiores a 1 desviación típica fenotípica del caracter.
Los pollos se criaron en dos lotes en el Departamento de Producción Animal de la UdL desde un día de edad hasta las 21 semanas de vida, separando dentro de lote las líneas y sexos en departamentos con una densidad de 3 animales/m^2. Se utilizó una dieta de arranque (3000 kcal EM/kg y 226 g proteína/kg) ofrecida *ad libitum* durante las tres primeras semanas de vida. De las 3 semanas hasta las 21 semanas de vida la dieta contenía 3200 kcal EM/kg y 208 g de proteína/kg y también fue administrada *ad libitum*. El programa de iluminación y temperatura fue el utilizado en el engorde comercial de broilers.
El peso vivo se controló a las 5, 10, 15 y 20 semanas de vida y los pesos de los animales se ajustaron a una función de Richards utilizando un modelo mixto no lineal con coeficientes aleatorios mediante el procedimiento MIXED del SAS y una modificación de la macro NLINMIX (Littell et al., 1996). El peso del animal i el día d ($P_{i,d}$) se analizó con el siguiente modelo:

$$P_{i,d} = (a_{TIPO} + a_{LOTE} + A_i) \times [1+(b_{TIPO}+b_{LOTE}) \exp^{(-(k_{TIPO}+k_{LOTE}+K_i) \times t)}]^{-(1/n)} + e_{i,d} \qquad [1]$$

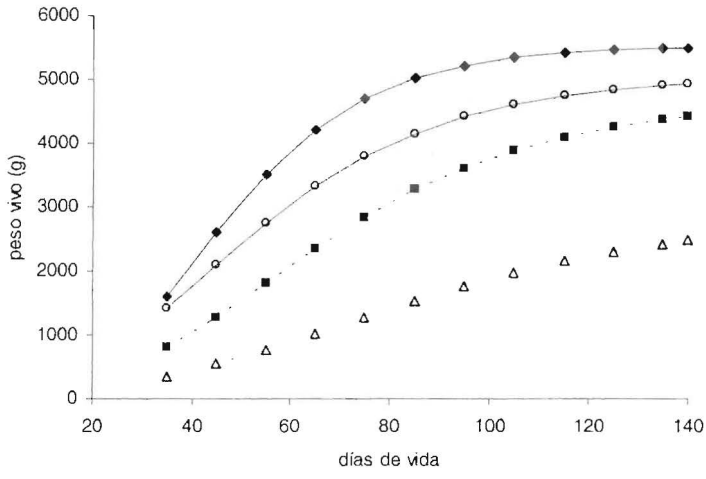
Donde a_{TIPO}, a_{LOTE}, b_{TIPO}, b_{LOTE}, k_{TIPO}, k_{LOTE} son los efectos fijos del tipo genético (Bm, Bh, PNm, MNm) y el lote (1 y 2) sobre los parámetros A, b y k, respectivamente; y n es un parámetro común para todas los tipos genéticos y lotes.
En el modelo [1] los efectos aleatorios A_i, K_i están distribuidos según una normal multivariada N(0,V) y $e_{i,d}$ son independientes N(0, σ^2_e).

Las estimas mínimo cuadráticas del peso medio de cada tipo genético el día *d* se obtuvo a partir de la solución del modelo [1].
Paralelamente los pesos se ajustaron a un modelo polinomial de 3er grado con coeficientes aleatorios utilizando el procedimiento MIXED del SAS (Littell et al., 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra las curvas de crecimiento obtenidas. Los pesos estimados para la línea MN son algo superiores a los obtenidos por Francesch (1992) en un estudio hasta las 11 semanas pero se pueden continuar considerando equivalentes a los de la población base. En la Tabla 1 se comparan los pesos estimados a diferentes edades utilizando la aproximación polinómica. La línea MNm de Penedesenca Negra muestra diferencias significativas con el resto de los tipos genéticos para todas las edades. La línea PNm muestra siempre un crecimiento inferior a los machos Broiler pero a partir de 110 días no se diferencia estadísticamente de las hembras Broiler. Aunque el tamaño muestral no permite una correcta caracterización de los tipos genéticos presentados los resultados concuerdan con los que se están obteniendo en una muestra mayor que esta siendo controlada en estos momentos.
Teniendo en cuenta el peso maduro estimado (A), a las 20 semanas, el grado de madurez (Peso/A) era del 98%, 97%, para Bm, Bh, valores similares a los obtenidos con líneas de broilers por Knizetova et al. (1991). En cuanto a las líneas PNm y MNm el estado de madurez a las 20 semanas era del 95% y 87%, respectivamente. El control de peso a las 20 semanas de la línea PNm y de los dos sexos de Broiler se puede considerar como un peso a la madurez que permite una buena descripción de la curva de crecimiento global de estos animales. En cambio en la línea MNm a las 20 semanas los animales todavía continúan con su crecimiento por lo que para una mejor estimación de su curva sería conveniente un control posterior.

Figura 1. Curva de crecimiento estimada según un modelo de Richards para broilers macho (—♦—) y hembra (—○—), Penedesenca Negra línea PNm (---■---) y MNm (---Δ---)



Cuando se analiza la evolución del grado de madurez en función de la edad metabólica (edad/$A^{0.27}$) persisten las diferencias entre las dos líneas de Penedesenca Negra para todas las edades metabólicas. Estas diferencias indican que no sólo existe un efecto de escala sino que pueden existir factores genéticos específicos que expliquen la diferencia entre las líneas (Taylor, 1980).
Aunque el tamaño muestral de las líneas de Penedesenca Negra es reducido, la gran diferencia de crecimiento observada (entre 2 y 3 desviaciones típicas fenotípicas según la edad), junto con la evidencia de que puedan existir factores genéticos específicos que expliquen estas diferencias, hace que las dos líneas de Penedesenca Negra constituyan un material genético muy interesante para el estudio de los factores fisiológicos y genéticos relacionados con el crecimiento.

Tabla 1. Peso estimado a diferentes edades para Broilers macho (Bm) y hembra (Bh) y Penedesenca Negra línea PNm y MNm.

	Bm		**Bh**		**PNm**		**MNm**	
edad (d)	peso(g)	e.e.	peso(g)	e.e.	peso(g)	e.e.	peso(g)	e.e.
35	1575^{a}	46.5	1452^{b}	38.7	748^{c}	57.9	401^{d}	58.1
50	3148^{a}	89.0	2498^{b}	62.1	1567^{c}	106.4	710^{d}	115.4
70	4500^{a}	110.5	3521^{b}	74.7	2511^{c}	132.3	1205^{d}	144.2
90	5193^{a}	129.4	4204^{b}	87.2	3270^{c}	148.2	1724^{d}	161.5
110	5435^{a}	201.8	4637^{b}	135.4	3826^{c}	223.9	2192^{d}	243.6
130	5435^{a}	285.3	4911^{ab}	197.3	4160^{b}	316.6	2531^{c}	341.8
140	5410^{a}	351.5	5016^{ab}	251.0	4238^{b}	392.5	2627^{c}	419.4

Dentro de edad las medias con diferente letra difieren estadísticamente ($P < .05$)

e.e.: error estándar

BIBLIOGRAFÍA

Francesch, A., 1992. Avance de resultados productivos en la mejora genética de poblaciones de las razas de gallinas Penedesenca Negra y Ampurdanesa en producciones de carne. XXIX Symposium WPSA sección española. Salamanca. 243-252

Littell, R. C., Milliken, G. A., Stroup, W. W. y Wolfinger R. D., 1996. SAS System for Mixed Models. Cary, NC.

Knizetova, H., J. Hyanek, B. Knize y J. Roubicek 1991. Analysis of growth curves of fowl. I. Chickens. British Poultry Science **32**(5): 1027-1038.

Taylor, St C. S., 1980. Live-weight growth from embryo to adult in domesticated mammals. Animal Production 31: 223-235

Agradecimientos: Se agradece la colaboración de GRANJA CRUSVI S.A.

ASPECTOS GENÉTICOS DEL BIENESTAR EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Xavier Manteca[1] y Jesús Piedrafita[2]

[1] Departament de Biologia Cel.lular, Fisiologia i Immunologia, UAB
[2] Departament de Ciència Animal i dels Aliments, UAB
08193-Bellaterra, Barcelona

Importancia del bienestar animal en producción animal

La preocupación por el bienestar de los animales de granja ha aumentado considerablemente en los últimos años en Europa y en otros países (Appleby y col., 1992). En el caso concreto de la Unión Europea, esta preocupación se ha traducido en la elaboración de varias directivas que establecen las normas mínimas para la protección de los animales de granja, tanto en las explotaciones ganaderas como durante el transporte y sacrificio; dichas directivas son de cumplimiento obligatorio en todos los estados miembros de la UE. Además, la exigencia por parte de los consumidores de que se garantice el bienestar de los animales se ha convertido en un condicionante importante en producción animal, especialmente en los países del norte de Europa. Los productores españoles que quieran exportar a estos países deberán tener cada vez más en cuenta este aspecto. La preocupación por el bienestar animal aumenta conforme más rica y urbana es una sociedad; por lo tanto, todo parece indicar que los consumidores españoles estarán cada vez más sensibilizados sobre este tema y, en consecuencia, el bienestar animal se convertirá en un aspecto importante más allá de requerimientos legales, incluso para los productores españoles que no deseen exportar al norte de Europa.

Concepto de bienestar animal

El estudio del bienestar animal puede abordarse desde distintos puntos de vista. Algunos autores (Duncan, 1996) definen bienestar como ausencia de sufrimiento; aunque esta definición tiene la ventaja de ser muy intuitiva, presenta la dificultad de que el sufrimiento de un animal no puede cuantificarse de forma objetiva. Por esta razón otros autores (Broom, 1986) adoptan una perspectiva más amplia y definen el bienestar como una medida de la adaptación de los animales a su ambiente. De acuerdo con esta definición, un animal puede encontrarse teóricamente en tres situaciones diferentes. En primer lugar, si la adaptación al ambiente es imposible, el animal morirá o enfermará; en consecuencia, la mortalidad, la incidencia de enfermedades y lesiones causadas por el ambiente son indicadores de falta de bienestar.

En segundo lugar, la adaptación al ambiente puede ser posible pero suponer un coste biológico importante para el animal. Dicho coste es consecuencia normalmente de dos factores: (1) una respuesta de estrés intensa o duradera que afecte negativamente al crecimiento, reproducción o sistema inmunitario (Broom y Johnson, 1993) o (2) conductas anormales tales como estereotipias o conductas redirigidas, que causan lesiones o disminuyen la condición corporal de los animales. En consecuencia, la aparición de estas conductas así como los parámetros fisiológicos y comportamentales indicativos de estrés o de sus consecuencias son también medidas objetivas de falta de bienestar.

En tercer lugar, un animal puede encontrarse en un ambiente adecuado en el que la adaptación sea no solo posible sino también fácil, de modo que no suponga ningún coste biológico para el animal. En este caso el bienestar del animal sería satisfactorio.

De una forma tal vez más práctica, el *Farm Animal Welfare Council* del Reino Unido (Farm Animal Welfare Council, 1992) considera que un nivel adecuado de bienestar requiere cinco condiciones: (1) un buen control de las enfermedades, especialmente de aquellas que cursan con dolor, (2) una nutrición correcta, (3) confort térmico y físico (es decir, ausencia de lesiones causadas por el tipo de suelo, etc.), (4) ausencia de miedo o estrés intensos o

prolongados, y (5) posibilidad de llevar a cabo las conductas por las que el animal muestra una motivación importante.

Genética y bienestar animal

La mayoría de recomendaciones para mejorar el bienestar de los animales de granja suponen cambios en el diseño de las instalaciones o en las prácticas de manejo; es decir, en cierta medida se intenta adaptar el sistema de producción a las necesidades del animal. Si bien pensamos que esta aproximación tiene un valor indudable, presenta al menos dos problemas. En primer lugar, algunos de los cambios recomendados suponen un aumento considerable de los costes de producción (por ejemplo, sustituir el sistema de jaulas en baterías por sistemas alternativos de producción de huevos). En segundo lugar, hay determinados aspectos de la cadena de producción que causan problemas de bienestar y son difícilmente evitables (por ejemplo, la carga y descarga de los animales al ser transportados). Por lo tanto, pensamos que frente a determinados problemas, resultaría muy útil no solo adaptar el sistema al animal, sino también poner en marcha programas de selección que dieran como resultado animales mejor adaptados (es decir, con un menor coste biológico, ver antes) a los sistemas de producción normalmente utilizados.

Además de esto, algunos de los criterios de selección utilizados hasta ahora han causado de forma colateral problemas de bienestar (por ejemplo, la selección para aumentar la velocidad de crecimiento de los pollos *broiler* ha causado problemas de cojeras (Kestin y col., 1992); la selección en favor de la prolificidad en porcino ha contribuido a los problemas de mortalidad neonatal (Scientific Veterinary Committee, 1997)). Un segundo objetivo de la genética aplicada al bienestar, por lo tanto, sería evitar los efectos negativos que los programas de selección encaminados a mejorar la productividad pueden tener sobre el bienestar de los animales. A continuación presentamos un ejemplo que pretende ilustrar la posible aplicación de la genética a la mejora del bienestar animal.

El miedo en animales de granja: consideraciones genéticas y de bienestar animal

El miedo es una emoción que aparece frente a situaciones de novedad o estímulos que el animal ha aprendido a asociar con experiencias desagradables. En algunos casos, además, el miedo aparece de forma "innata" (no aprendida) frente a determinados estímulos. El miedo tiene carácter aversivo y va acompañado de una respuesta de estrés; por ambas razones se considera un problema importante de bienestar. Por otra parte, al miedo prolongado o intenso tiene efectos negativos sobre la productividad (ver la excelente revisión de Boissy, 1998).

Miedo y ansiedad innatos

Los animales de granja muestran frecuentemente reacciones de miedo frente a las personas y también frente a situaciones desconocidas. Aunque indudablemente las experiencias previas de cada individuo tienen un efecto importante sobre la magnitud de la respuesta de miedo (Hemsworth y Barnett, 1991), diversos trabajos han puesto de manifiesto que los procesos de miedo y ansiedad se encuentran en parte bajo control genético, lo cual puede contribuir a la existencia de diferencias individuales (Bouchard y col., 1990). En varias especies domésticas, el componente genético es responsable de parte de las diferencias individuales en la respuesta a los seres humanos. La heredabilidad de la reacción de defensa a los humanos ha mostrado valores consistentes en bovinos lecheros (Dickson y col., 1970), bovinos de carne (LeNeindre y col., 1995), cerdos (Hemswort y col., 1990), aves (Jones, 1986) y perros (Goddard y Beilharz, 1984).

Al igual que sucede en distintas poblaciones de roedores, se ha visto que hay diferencias en las reacciones relacionadas con el miedo entre dos razas ovinas, Romanov e Ile de France (Romeyer y Bouissou, 1992). Pero la raza también influye la reactividad social. Así, cerdos chinos separados de sus compañeros de piara manifiestan menos reactividad social que las razas europeas (Boissy y col., 1996), mientras que la reactividad hacia los

seres humanos varía entre razas de ovinos y bovinos (Romeyer y Bouissou, 1992; LeNeindre y col., 1993).

Reactividad psicobiológica

La existencia de diferencias entre razas y estirpes en las respuestas adaptativas fisiológicas y de conducta a estímulos aversivos sugiere que la herencia juega un papel importante en la determinación de las reacciones relacionadas con el miedo. En roedores se ha llevado a cabo diversos experimentos de selección de distintas reacciones neuroendocrinas y comportamentales que muestran convincentemente la influencia genética de las respuestas relacionadas con el miedo (ver revisión de Brush, 1991). En animales de granja también se tiene resultados que apuntan en la misma dirección. Se seleccionaron con éxito gallinas durante varias generaciones sobre la base de una alta o baja reactividad en el test de campo abierto (Faure y Folmer, 1975). Del mismo modo, una heredabilidad de 0,5 de las reacciones de los perros de defensa ha permitido seleccionarlos de acuerdo con su reacción comportamental en respuesta a un estímulo ambiental (Goddard y Beilharz, 1984). Además, se ha puesto de manifiesto que cuando se seleccionan estirpes según un determinado carácter comportamental o endocrino medido según un test concreto, los animales difieren también en otros caracteres psicobiológicos que son observables en una amplia variedad de ambientes que provocan ansiedad. Así, gallinas seleccionadas para baja actividad del aparato locomotor exhibían también alargamiento de las reacciones de inmovilidad tónica, marcadas respuestas a estímulos acústicos o visuales, mayor latencia a emerger en un área no familiar, y menor aceptación de alimento nuevo (Faure, 1981).

Las investigaciones relativas al miedo pueden ser particularmente relevantes para la evaluación del bienestar animal, ya que depende de la medida en que éste es capaz de hacer frente a los desafíos ambientales (Broom, 1988). La mejora del ganado se ha acompañado indirectamente de la selección por adaptabilidad al manejo intensivo (Price, 1984). A menudo, no obstante, las prácticas ganaderas cambian con demasiada rapidez, de forma que los procesos adaptativos no pueden evolucionar a medida que lo hacen los sistemas de cría.

Las condiciones de alojamiento de la ganadería intensiva restringen profundamente el control que tienen los animales, lo cual está asociado a menudo con el aumento de la actividad del eje hipotalámico-pituitario-adrenocortical. Dantzer y Mormède (1983) han postulado que elevados niveles de ACTH y corticoides podrían causar pérdidas de producción y un aumento de la susceptibilidad de los animales a las enfermedades bajo condiciones estresantes. Además, se ha visto que la susceptibilidad a asustarse fácilmente puede conducir a un descenso de la productividad. Las cabras más reactivas tienen una menor eyección de leche (Lyons, 1989). Asimismo, las gallinas que picotean más las plumas son las más temerosas durante las pruebas de inmovilidad tónica (Vestergard y col., 1993).

Dado que la reactividad emocional está en cierta medida bajo control genético, podría iniciarse programas de selección para reducir los comportamientos relacionados con el miedo y la ansiedad en los animales domésticos (LeNeindre y col., 1996). Por todo ello, el desarrollo de investigaciones encaminadas a evaluar patrones de reactividad psicofisiológica en los animales domésticos podría mejorar nuestro conocimiento de los factores y mecanismos que gobiernan las causas del estrés, ofreciendo nuevas estrategias para la mejora del bienestar y la eficiencia de producción.

La nueva frontera

Lo que se acaba de describir se encuadra dentro de un contexto de genética cuantitativa clásica. En roedores de laboratorio se han comenzado a cartografiar algunos QTLs (p.e. Gershenfeld y Paul, 1997; Valentinuzzi y col., 1998). Se argumenta que la identificación de nuevos QTLs relacionados con el miedo puede conducir a identificar genes que condicionan el comportamiento, lo cual daría pistas para un diseño racional de nuevos fármacos.

En los animales domésticos este es un campo de estudio todavía por iniciar. Cabe sugerir, no obstante, que a la detección de regiones cromosómicas con efecto significativo

sobre el miedo, cabría añadir la búsqueda de genes candidatos relacionados con el sistema nervioso simpático y el eje hipotalámico-pituitario-adrenocortical, de acción demostrada en las reacciones de miedo.

Referencias bibliográficas

Appleby M.C., Hughes B.O., Elson H.A. 1992. *Poultry Production Systems. Behaviour, Management and Welfare*, pp. 87-101. CAB International, Wallingford.

Boissy A. 1998. En: T. Granding (ed.) *Genetics and the behavior of domestic animals*, pp. 67-11. Academic Press, San Diego.

Boissy A., LeNeindre P., Orgeur P., Bouix J. 1996. *Proc 30 th Int. Cong. Int. Soc. Apll. Ethol.*

Bouchard T.J., Lykken D.T., McGue M., Segal N.L., Tellegen A. 1990. *Science*, 250, 223-228.

Broom D.M. 1986. *Br. Vet. J.*, 142, 524-526.

Broom D.M. 1988. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 19, 384-386.

Broom D.M., Johnson K.G. 1993. *Stress and Animal Welfare*, pp. 111-144. Chapman Hall, Londres

Brush F.R. 1991. *Experientia*, 47, 1039-1050.

Dantzer R., Mormède P. 1983. *J. Anim. Sci.*, 57, 6-18.

Dickson D.P., Barr G.R., Johnson L.P., Wieckert D.A. 1970. *J. Dairy Sci.*, 53, 904-907.

Duncan I.J.H. 1996. *Acta Agriculturae Scandinavica*, Section A, Animal Science, Suppl. 27, 29-35.

Farm Animal Welfare Council 1992. *Veterinary Record*, 131, 357.

Faure J.M. 1981. *Behav. Genet.*, 11, 135-144.

Faure J.M., Folmer J.C. 1975. *Ann. Génét. Sél. anim.*, 7, 123-132.

Gershenfeld H.K., Paul S.M. 1997. *Genomics*, 46(1), 1-8.

Goddard M.E., Beilharz R.G. 1984. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 12, 253-265.

Hemsworth P.H., Barnett J.L. 1991. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 30, 61-72.

Hemswort P.H., Barnet J.L., Treacy D., Madgwick P. 1990. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 25, 85-95.

Jones R.B. 1986. *World's Poultry Sci. J.*, 42, 82-96.

Kenny F.J., Tarrant P.V. 1987. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 17, 209-227.

Kestin S.C., Knowles T.J., Tinch A.E., Gregory N.G. 1992. *Veterinary Record* ,131, 191-194.

LeNeindre P., Boivin X., Boissy A. 1996. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 49, 73-81.

LeNeindre P., Poindou P., Trillat G., Orgeur P. 1993. *Génét. Sél. Evol.*, 25, 447-458.

LeNeindre P., Trillat G., Sapa J., Ménissier F., Bonnet J., Chupin J. 1995. *J. Anim. Sci.*, 73, 2249-2253

Lyons D.M. 1989. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 22, 269-282.

Price E.O. 1984. *Q. Rev. Biol.*, 59, 1-32.

Romeyer A., Bouisson M.F. 1992. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 34, 93-119.

Scientific Veterinary Committee 1997. *The Welfare of Intensively Kept Pigs*. Pp. 72-77. CEC, Brussels.

Valentinuzzi V.S., Kolker D.E., et al. 1998. *Learning & Memory*, 5(4-5), 391-403.

Vestergaard K.S., Kruijt J.P., Hogan J.A. 1993. *Anim. Behav.*, 45, 1127-1140.

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA DE CINCO RAZAS ASNALES ESPAÑOLAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN

N. Alaoui[ab], M. Ponsà[a], J. Jordana[b].

[a] Departament de Biologia Cel.lular, Fisiologia Animal i Immunologia. Facultat de Ciències.
[b] Departament Ciència Animal i dels Aliments. Facultat de Veterinària.
Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, la disminución en el número de razas a nivel mundial está afectando de forma dramática a todas o casi todas las especies domésticas. Según estadísticas de la FAO, se estima que el 30% de las razas de ganado se hallan en riesgo de extinción y muchas más, sobre todo en los países en vías de desarrollo, están amenazadas por una utilización ineficaz (Barker, 1999). Las razas asnales españolas están catalogadas, según criterios de la FAO, como razas en peligro de extinción (RD 3322, BOE Núm. 33, 1995). De acuerdo a ello, se hace necesario tomar medidas urgentes para la conservación de este patrimonio genético.

La variabilidad intra e interespecífica, que corresponde a los polimorfismos cromosómicos, es una parte muy importante de la biodiversidad y fundamental para entender la evolución de las poblaciones. En este trabajo se presentan los resultados de un amplio estudio cromosómico en cinco razas asnales españolas: *Andaluza, Asno de las Encartaciones, Catalana, Mallorquina y Zamorano-Leonesa.*

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 42 animales de la especie *Equus asinus,* de cinco razas autóctonas españolas: Andaluza (n=6), Asno de las Encartaciones (n=9), Catalana (n=11), Mallorquina (n=6) y Zamorano-Leonesa (n=10). A partir de muestras sanguíneas heparinizadas se llevaron a cabo los correspondientes cultivos celulares linfocitarios, a 37ºC durante 72-96h, para la obtención de las metafases, utilizando técnicas estandarizadas y añadiendo colcemid como antimitótico. Obtenidas las metafases, se procedió a analizar los cromosomas con técnicas secuenciales de tinción: uniforme (tinción de Leishman), bandas G y bandas C (Seabright, 1971 y Sumner 1972, modificadas).

Las imágenes se tomaron con un microscopio óptico Zeiss y se analizaron a través de fotografías y/o Citovisión. Los cariotipos se realizaron siguiendo la ordenación propuesta por Ryder *et al.* (1978).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

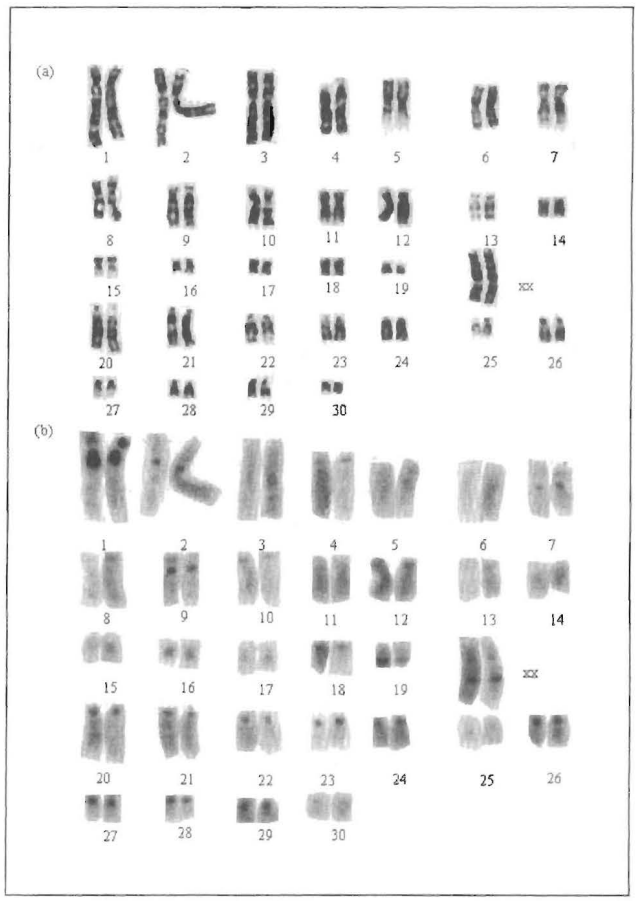
Todos los ejemplares analizados presentaron el mismo número cromosómico 2n=62 (número fundamental, NF = 98), con 19 pares cromosómicos metacéntricos y submetacéntricos y 11 acrocéntricos; más el par de cromosomas sexuales, submetacéntrico el X y acrocéntrico el Y (Figura 1).

Variaciones numéricas se hallaron en un único ejemplar de la raza Catalana, el cual poseía 63 cromosomas, producto de una fisión céntrica ocurrida en uno de los cromosomas del par metacéntrico 3, dando como resultado dos cromosomas acrocéntricos. Esta alteración numérica quizá podría tener un significado evolutivo. Ryder y Chemnik (1990) describieron la presencia de una fusión céntrica de dos cromosomas acrocéntricos en la especie *E. hemionus*, rob(23,24), y en la especie *E. kiang*, rob(22,23), siendo el resultado un cromosoma homólogo (mismo patrón de bandas G) al cromosoma 3 de *E. asinus*. Resultados similares a la fisión del

cromosoma 3, también han sido descritos en el cromosoma 5 de *E. burchelli* o Zebra de Grant (Whitehouse *et al.*, 1984).

Describimos presencia de heterocromatina centromérica en los cromosomas metacéntricos y submetacéntricos 1, 2, 7 y 9, y en todos los cromosomas acrocéntricos, excepto en el cromosoma 25. La heterocromatina telomérica se presenta en los brazos p de los cromosomas 1, 4, 8, 10, 12, 13 y 18, y en el brazo q del cromosoma 19; mientras que, en los cromosomas sexuales la heterocromatina se presenta hacia la mitad del brazo q del cromosoma X, siendo el cromosoma Y todo él heterocromático.

Figura 1. Cariotipo de una hembra de raza Andaluza, realizado con las técnicas de bandas secuenciales G (a) y C (b)

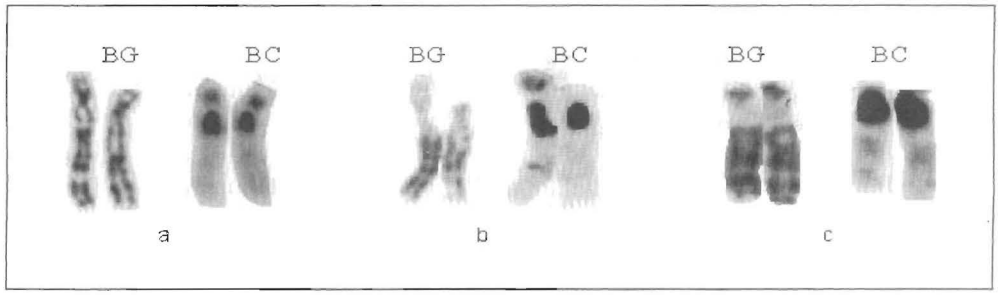


Polimorfismo de tamaño de las bandas heterocromáticas se ha descrito en varios individuos de diferentes razas, debido principalmente a deleciones de los brazos p de los cromosomas. Así, el cromosoma 1 presenta una deleción parcial del brazo p, que corresponde a heterocromatina terminal. Este tipo de deleción se ha encontrado en un ejemplar de la raza Mallorquina (en heterocigosis), y en tres ejemplares de la raza Zamorano-Leonesa, dos heterocigotos y un homocigoto (Figura 2). El cromosoma 4 es

muy submetacéntrico, y el polimorfismo en este cromosoma se presenta como una deleción total del brazo p, correspondiendo a heterocromatina terminal, resultando además de un cambio morfológico, una disminución del número fundamental (NF=97). Este hecho se ha observado en todos los individuos analizados de la raza Asno de las Encartaciones, y con menor presencia en las demás razas (Andaluza, Catalana, y Zamorano-Leonesa), no detectándose ningún caso en la raza Mallorquina.

Y ya por último, en un ejemplar de la raza Zamorano-Leonesa, se ha observado en un cromosoma del par 21, la adición de una banda G positiva y C positiva.

Figura 2. Diferentes formas en el cromosoma 1 en la especie *E. asinus* (a): forma estándar; (b): heterocigoto para la deleción de la heterocromatina; (c) homocigoto para la deleción de la heterocromatina.



Al comparar nuestras descripciones con la literatura publicada en las diferentes especies del genero *Equus*, hemos observado que los asnos domésticos (razas españolas analizadas) y los asnos salvajes de Somalia (*E. a. somaliensis*) presentan una morfología específica y característica para el cromosoma X, que los diferencia de otras especies del género *Equus*. El cromosoma X es muy submetacéntrico, con heterocromatina intersticial en el brazo q, aunque dicha heterocromatina también la presenta *E. hemionus onager* (asno salvaje de Persia). La diferente morfología se debería a una inversión pericéntrica (roturas y reuniones que incluyen al centrómero), que habría tenido una mayor o menor importancia en los procesos evolutivos del género (Ryder et al., 1978).

El elevado número de individuos analizados en este trabajo, nos ha permitido describir la presencia de diversos polimorfismos en la especie *E. asinus*; sin embargo, y tal como era de esperar, ninguna de las formas polimórficas descritas puede ser adjudicada a una raza concreta, por lo que hay que considerar los polimorfismos como intraespecíficos, es decir, propios de la especie *E. asinus*.

BIBLIOGRAFÍA

Barker J.S.F. (1999). AGRI, 25, 33-43.
Houck M.L,. Kumamoto A.T, Cabrera R.M., Benirschke K. (1998). Cytogenetic. Cell Genet., 80, 117-122.
Ryder O.A., Epel N.C., Benirschke K. (1978). Cytogenet. Cell Genet., 20, 323-350 .
Ryder O.A., Chemnik L.G. (1990). Genetica, 83, 67-72.
Seabright M. (1971). Lancet II: 971-972.
Sumner A.T. (1972). Exp. Cell Res., 75. 304-306.
Whitehouse D.B., Evans E.P., Putt W., Gerge A.M. (1984). Cytogenet. Cell Genet., 38, 171-175.

AGRADECIMIENTOS: Trabajo financiado por la CICYT, AGF98-0503.

INTERÉS DE LA ECOGRAFÍA EN LA DEFINICIÓN DE NUEVOS CRITERIOS DE SELECCIÓN EN PORCINO

Alfonso, L.[1], Ripa, X.[1], Iriarte, J.C.[2]
[1]Dpto. Producción Agraria, Universidad Pública de Navarra, 31006 Pamplona
[2]I.T.G.Ganadero, S.A., 31006 Pamplona

INTRODUCCIÓN

La selección de genotipos porcinos para una mayor eficiencia en la deposición de tejido muscular se ha basado en la medición de la profundidad del tejido adiposo subcutáneo a nivel dorsal. Para ello ha sido habitual utilizar en vivo equipos de ultrasonidos que informan únicamente del espesor total de este tejido, considerándolo como un tejido homogéneo (p.ej. Renco Lean-Meater). No obstante, se sabe que el depósito de grasa subcutáneo presenta tres capas (externa, media e interna) claramente diferenciadas que aparentemente tienen distintas propiedades y comportamiento. Así, Eggert et al. (1997) señalan una asociación positiva del espesor de la capa interna con una mayor consistencia de la grasa, y con una menor incidencia de separación entre las capas de grasa. En otro trabajo (Eggert et al., 1998) se indican patrones distintos de deposición y movilización de grasa durante los periodos de gestación y lactación de las cerdas, siendo el orden de deposición externa, media e interna, y la movilización únicamente de la capa externa, no variando su espesor la interna y aumentándolo la capa media. Respecto a la composición de la grasa, Lonergan et al. (1990) refieren un perfil de ácidos grasos insaturados mayor en la capa externa que en las otras dos, observando estas diferencias en hembras pero no en machos castrados, y Romans et al. (1995) encuentran un menor porcentaje de ácidos grasos ω3 en la capa externa que en el conjunto de las otras dos capas.

Estos resultados indican que se puede pensar en considerar cada capa de grasa subcutánea como un tejido adiposo diferenciado y por tanto expresión de distintos conjuntos de genes. La utilización de equipos de ultrasonidos con representación gráfica bidimensional permite diferenciar tales capas, ofreciendo la posibilidad de estudiarlas en vivo por separado. El objetivo de este trabajo es valorar la utilización de esa técnica en cerdos en crecimiento y estimar si existe homogeneidad en la deposición de grasa en las distintas capas. Para ello se utilizan dos tipos genéticos claramente diferenciados en la deposición del tejido adiposo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 44 animales, 22 de una línea materna de *Large White* y 22 de raza *Pie Noir du Pays Basque*. Los animales procedían de apareamientos programados para iniciar el engorde con la misma edad (σ=4.94 días) y se engordaron en 4 lotes, separados por tipo genético, utilizando los mismos piensos comerciales. Cuatro animales *Pie Noir du Pays Basque* fueron baja a lo largo del engorde, de modo que en los análisis sólo se consideraron los 18 que alcanzaron el final del cebo. A los 80 días de vida, con un peso aproximado de 30 kg, se iniciaron los controles que se repitieron cada 4 semanas hasta el momento del sacrificio (a aproximadamente los 7 meses de vida), realizando un total de 5 controles. Los controles que se realizaron fueron el espesor de grasa dorsal mediante: 1) la sonda Renco Lean-Meater a la altura de la última costilla y a ambos lados de la zona

media, a unos 6 cm de distancia; 2) ecografía en la misma zona y en la parte derecha del animal, usando el equipo Sonovet 600V equipado con una sonda lineal de 3,5 Mhz y 120 mm. La imagen adquirida por el ecógrafo se analizó utilizando el software OPTIMAS v.6.5 (Media Cybernetics, L.P.), midiendo el espesor de grasa de cada una de las 3 capas (externa, media e interna).

El modelo de análisis fue: $y_{ij} = \mu + TG_i + b_1 . Edad_j + b_2 . (Edad_j (TG_i)) + e_{ij}$; siendo, para el animal j del tipo genético i, TG_i el efecto del tipo genético, $Edad_j$ el efecto de la edad (expresada respecto a su valor medio, 136,6 días), e y_{ij} el espesor de grasa de la 1ª, 2ª o 3ª capa (medido sobre imagen) o del conjunto de capas (medido con sonda Reńco-Lean Meater).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados confirman las diferencias esperadas entre tipos genéticos de acuerdo a trabajos previos (Iriarte y Alfonso,2000), pero muestran que no son homogéneas al considerar las capas de grasa separadamente (Tabla 1). Existen escasas diferencias entre tipos genéticos en la capa externa de grasa, teniendo la misma evolución en función de la edad de los animales. Las diferencias totales en deposición de grasa parecen estar ligadas al distinto desarrollo de las capas media e interna de grasa, fundamentalmente de la media, que explica más del 50% de las diferencias entre tipos genéticos (Figura 1). Esas diferencias vienen en parte explicadas por las diferencias en la edad en que los animales de cada tipo genético empiezan a desarrollar cada capa de grasa. Mientras que a los 3,5 meses de edad en todos los animales *Pie Noir* era distinguible la capa media, ésta sólo se distinguía en un 20% de animales *Large White*. Lo mismo ocurrió con la capa interna, a los 4,5 meses se distinguía en más de un 70% de *Pie Noir* y en menos de un 20% de los *Large White*.

Si como se ha apuntado cada capa de grasa se relacionase con distintas características de textura y composición de ácidos grasos, considerarlas como distintos caracteres podría permitir una mejor selección de las características de calidad de la canal y la carne en porcino. Por otra parte, de confirmarse una distinta movilización de reservas de las distintas capas durante el ciclo reproductivo de las cerdas (gestación - lactación), se podría pensar en evitar ciertas consecuencias negativas que la selección por magro ha podido provocar en los resultados reproductivos de las cerdas (Rauw et al., 1998).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

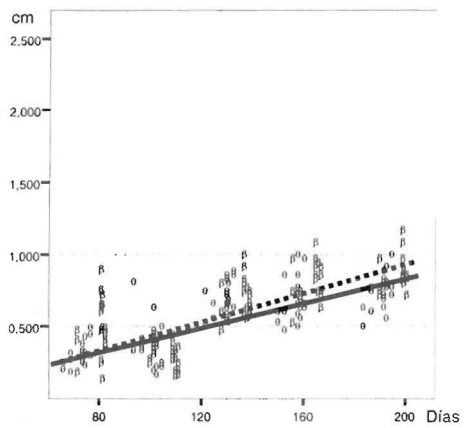
Eggert,J.M., Farrand,E.J., Mills,S.E. y Schinckel,A.P. (1997) Swine Day Report, Purdue University
Eggert,J.M., Belstra,J.M., Richert,B.T. y Schinckel,A.P. (1998) Swine Day Report, Purdue University
Iriarte,J.C. y Alfonso,L. (2000) Navarra Agraria, 123:34-42
Lonergan,S. Sebranek,J.G. y Prusa,K.J. (1990) Iowa State Swine Research Report
Rauw ,W.M., Kanis,E., Noordhuizen-Stassen,E.N. y Grommers,F.J. (1998) Livest. Prod. Sci. 56:15-33
Romans,J.R., Johnson,R.C., Wulf,D.M., Libal,G.W. y Costello,W.J. (1995) J. Anim. Sci. 73:1982-1986

Agradecimientos
Al Departamento de Educación y Cultura del Gobierno de Navarra (Ayuda a Proyectos de Investigación de interés para Navarra, 1999) y a Vicente Goñi por su inestimable colaboración en granja.

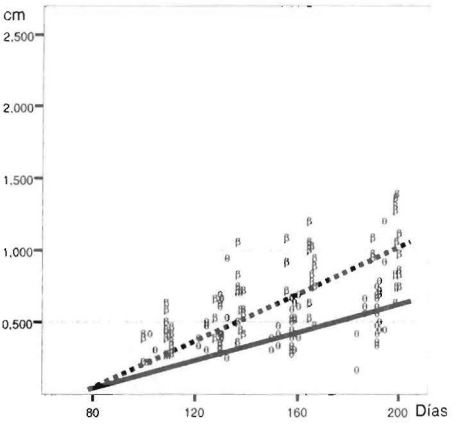
Tabla 1 – Diferencias en la deposición de grasa en las distintas capas del tejido adiposo subcutáneo en función del tipo genético (TG) y la edad.

	TG [3]	Edad	Edad*TG [3]
1ª capa (externa) [1]	-0.049±0.023 (*)	0.004±0.000 (***)	(ns)
2ª capa (media) [1]	-0.216±0.024 (***)	0.008±0.000 (***)	-0.003±0.001 (***)
3ª capa (interna) [1]	-0.122±0.023 (***)	0.006±0.000 (***)	-0.002±0.001 (***)
Total [2]	-0.396±0.038 (***)	0.011±0.001 (***)	-0.004±0.001 (***)

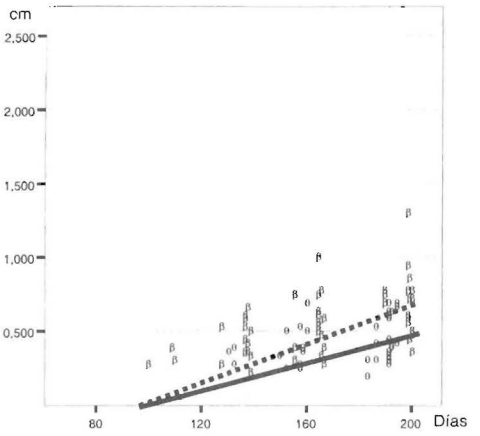
[1] Medición mediante ecógrafo Sonovet 600V y posterior tratamiento de imagen; [2] Medición mediante sonda Renco-Lean Meater; [3] Espesor en los animales *Large White* expresado en cm respecto a los animales *Pie Noir* (media del modelo = 0.601, 0.527, 0.278, 1.437 para 1ª, 2ª, 3ª y el total de las capas respectivamente); *: p≤0.05; ***: p≤0.001; ns: p>0.05



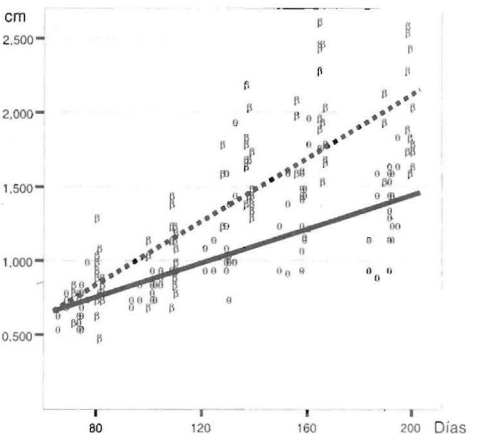
(a) Evolución de la capa externa (1ª capa)



(b) Evolución de la capa intermedia (2ª capa)



(c) Evolución de la capa interna (3ª capa)



(d) Evolución del espesor total (Renco)

Figura 1 - Evolución de la deposición de grasa con la edad
(*Large White* [o; ▬]; *Pie Noir* [x; ▪▪▪▪])

EFECTOS GENÉTICOS Y AMBIENTALES SOBRE LA ESTIMACIÓN INDIRECTA DE LA CALIDAD DEL ALBUMEN

J.L. Campo, M. García Gil, I. Muñoz y M. Alonso
Departamento de Genética y Biotecnología, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

La calidad del albumen es uno de los principales factores que afectan a las preferencias del consumidor y a la fertilidad de los huevos de incubar. La medida más aceptada de la calidad del albumen es la unidad Haugh (Haugh, 1937: Egg Poult. Mag. 43, 552-573), que es el logaritmo de la altura del albumen corregida con el peso del huevo: 100 log (A – 1,7 $P^{0,37}$ + 7,57), donde A es la altura y P es el peso. La mayor desventaja de este método destructivo es que el huevo no puede usarse para consumo o incubación. Narushin y Morgun (1995: 11th Int. Symp. Current Problems Avian Genetics 1, 164-166) han descrito un método no destructivo para medir la calidad del albumen, basado en el peso, la longitud, la anchura y la gravedad específica del huevo.

Williams (1992: World's Poult. Sci. J. 48, 5-16) ha revisado los factores genéticos y ambientales que afectan a la calidad del albumen, con especial referencia a las unidades Haugh. El efecto de los factores genéticos parece contradictorio. Curtis y col. (1985: Poult. Sci. 64, 302-306) encontraron diferencias significativas para las unidades Haugh entre ponedoras de huevo blanco y huevo marrón, teniendo las primeras peor calidad de albumen, mientras que Shalev (1995: World's Poult. Sci. J. 51, 7-16) no encontraron diferencias significativas. Los principales factores ambientales son la edad de la gallina y el almacenaje del huevo. En este estudio, se analizan los efectos de la raza, la edad y el almacenaje sobre el método de Narushin-Morgun para estimar la calidad del albumen, utilizando ponedoras de huevo blanco, crema o marrón.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los huevos se obtuvieron de siete razas españolas de gallinas (Castellana, Andaluza, Menorca, Prat, Leonesa, Vasca, y Villafranquina), una raza sintética, una población de Leghorn Blanca, y el "tester" e^{y}. Las razas Castellana, Andaluza y Menorca son ponedoras de huevo blanco, mientras que la Prat y la Leonesa son ponedoras de huevo crema, y la Vasca y la Villafranquina ponen huevos de color marrón y marrón oscuro, respectivamente. En el estudio se incluyeron tres variedades de la Andaluza (Azul, Perdiz, y Barrada), y dos variedades de la Prat (Leonada, y Blanca) y de la Leonesa (Parda, e India). Todas ellas se mantienen en la granja avícola de El Encín, dentro del programa de conservación iniciado por el INIA en 1975 (www.inia.es/sitemapa/pags/bib). La raza sintética se originó a partir del cruce F_2 entre la Castellana y la Prat Leonada (Campo y Orozco, 1986: Br. Poult. Sci. 27, 361-367), y la población de Leghorn Blanca cruzando tres estirpes seleccionadas para peso de huevo y puesta (Campo y Jurado, 1982: 2nd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production 8, 869-874).

Se utilizaron 4.201 huevos (1.912 eran frescos, analizados inmediatamente después de la puesta, y 2.289 eran almacenados, mantenidos a 15º C durante 24 h). Las gallinas tenían inicialmente 28 ó 50 semanas de edad (3.010 y 1.191 huevos,

respectivamente); de las primeras, unas se alojaban en gallineros sobre yacija (1.629 huevos) y otras estaban en semilibertad (1.381 huevos).

La longitud y la anchura del huevo se medían con un micrómetro digital (mm), y el peso del huevo con una balanza de precisión (g). La gravedad específica se medía por flotación, utilizando nueve disoluciones de cloruro sódico en agua (desde 1,068 a 1,100 g/cm^3 en incrementos de 0,004 g/cm^3). La calidad del albumen se estimó por la fórmula de Narushin y Morgun (1995): 1,28742 $P^{1,498}$ $(P - P_c)^{-2,933}$ $(V - V_c)^{2,393}$, donde P y P_c son el peso del huevo y el de la cáscara, y V y V_c son los volúmenes respectivos. El peso de la cáscara se estimó con la fórmula propuesta por Sooncharenying y Edwards (1989: Br. Poult. Sci. 30, 623-631): -652 + 1170 G – 0,6 P – 524 G^2 – 0,000151 P^2 + 0,647 G P, donde G es la gravedad específica. El volumen del huevo se estimó con la fórmula de Ayupov (1976: Express Information 9, 14-16): 0,523 L A^2, donde L y A son la longitud y la anchura del huevo. El volumen de la cáscara se estimó con la fórmula de Narushin (1993: 5th European Symposium on the Quality of Eggs 2, 217-222): 0,024 $V^{1,099}$ $S^{0,022}$ $(P/V)^{1,108}$, donde S es la superficie de la cáscara (cm^2), estimada con la fórmula de Carter (1975: Br. Poult. Sci. 16, 541-543): 0,9108 $L^{0,289}$ $A^{0,3164}$ $P^{0,4882}$. Las estimas de la calidad del albumen por el método directo (altura del albumen corregida con el peso del huevo) variaban entre 80 y 90 unidades Haugh, en huevos almacenados durante 24 h procedentes de las distintas razas españolas.

Se utilizó un análisis de varianza factorial con cuatro efectos principales (raza, edad, almacenaje y repetición), según el modelo: $y_{ijklm} = m + R_i + E_j + A_k + r_l + RE_{ij} + RA_{ik} + Rr_{il} + EA_{jk} + Er_{jl} + Ar_{kl} + REA_{ijk} + REr_{ijl} + RAr_{ikl} + EAr_{jkl} + REAr_{ijkl} + e_{ijklm}$. Se hicieron cinco repeticiones, y el diseño era desequilibrado (m = 10-20). La raza, la edad, y el almacenaje se consideraron efectos fijos. Las diferencias significativas entre razas se analizaron por la prueba múltiple de Student-Newman-Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La raza y la edad de la gallina fueron fuentes de variación significativas para la estima indirecta de la calidad del albumen ($P < 0,001$), mientras que el almacenaje, la repetición, y las diferentes interacciones no fueron significativas. Todas las estimas de calidad del albumen eran mayores de 60 unidades Haugh (nivel mínimo de aceptación por el consumidor), oscilando entre 62,21 y 68,68 para las distintas razas (Tabla 1). En todas las razas los valores estaban claramente infraestimados, entre 20 y 25%, en comparación con los valores obtenidos por estimación directa. Estos valores corresponden al grupo A de huevos frescos (entre 60 y 70 unidades Haugh), en lugar de al grupo AA de huevos extrafrescos (> 70 unidades Haugh), sugiriendo que la estimación indirecta de la calidad del albumen no tiene valor práctico. Cuando se usaron las fórmulas de Nordstrom y Ousterhout (1982: Poult. Sci. 61, 1991-1995), y Narushin (1984: Report 0294U1493, Institute of Mechanization of Animal Husbandry) para la estimación del peso de la cáscara y el volumen del huevo, en lugar de las de Sooncharenying y Edwards (1989) y Ayupov (1976), se obtuvieron todavía valores más infraestimados (entre 52,29 y 58,22 unidades Haugh), por debajo del grupo B de calidad (60 unidades). La calidad de albumen de la raza sintética era sólo un 2% mayor que la media de las dos razas parentales. La Leonesa Parda, tres razas ponedoras de huevo blanco (Andaluza Perdiz, Castellana, y Menorca), y la Villafranquina tenían valores significativamente más altos ($P < 0,05$) que la población de Leghorn Blanca, mientras

que la Prat Leonada era la única raza con un valor significativamente más bajo que la Leghorn. No había diferencias significativas entre las ponedoras de huevo blanco, crema, o marrón, siendo el valor medio similar en los tres grupos (66 unidades aproximadamente). Aunque la información sobre las diferencias genéticas entre razas es equívoca (Curtis y col., 1985; Shalev, 1995), suele aceptarse que cualquier diferencia carece de significación práctica (2-3 unidades).

Aunque no era de esperar, las gallinas de segunda edad tenían estimas significativamente más altas que las de primera edad (5,5 unidades Haugh), siendo las primeras ligeramente mayores que 70. El incremento en la calidad del albumen fue similar en los huevos frescos (de 64,27 a 70,95 unidades) o almacenados (de 64,92 a 69,39 unidades). Este aumento no concuerda con el hecho ampliamente aceptado de que la calidad del albumen disminuye con la edad de la gallina (Williams, 1992), aproximadamente 1 unidad Haugh por cada mes de puesta. Esto puede explicarse parcialmente debido a que la fórmula de Narushin-Morgun depende principalmente de medidas del huevo como la longitud, la anchura, y el peso, resultando en una sobreestimación en los huevos de gran tamaño puestos por las gallinas más viejas. La calidad del albumen no disminuyó significativamente después de 24 h de almacenaje. Este hecho no concuerda con la pérdida no lineal de calidad de albumen indicada generalmente en la literatura (Williams, 1992), disminuyendo después de las primeras 24 h de almacenaje mucho más que en días posteriores (6 unidades a 15° C, aproximadamente).

TABLA 1. Efecto de la raza, la edad, el almacenaje, y la repetición sobre la estimación indirecta de la calidad del albumen.

Raza		Edad		Almacenaje		Repetición	
Leonesa Parda	68,68^{a}	1	64,63^{b}	0	66,29^{a}	1	66,33^{a}
Andaluza Perdiz	68,06^{ab}	2	70,14^{a}	1	66,12^{a}	2	66,31^{a}
Castellana	68,03^{ab}					3	66,68^{a}
Villafranquina	67,86^{ab}					4	66,65^{a}
Menorca	67,80^{ab}					5	66,62^{a}
e^{y}	67,71^{ab}						
Sintética	66,53^{abc}						
Prat Blanca	66,47^{abc}						
Leonesa India	65,84^{bcd}						
Andaluza Azul	65,49^{bcd}						
Leghorn	64,68^{cd}						
Vasca	64,08^{de}						
Andaluza Barrada	63,81^{de}						
Prat Leonada	62,21^{e}						

^{abcde}Los valores de la misma columna con diferente superíndice difieren significativamente (CME = 100,37)

CARACTERIZACIÓN HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA Y MORFOLÓGICA DE CINCO RAZAS ASNALES ESPAÑOLAS EN PELIGRO DE EXTINCIÓN

E. García[a], R. Cuenca[b], J. Pastor[b], M. Gómez[c] y J. Jordana[a]

[a] *Unitat de Genètica i Millora Animal. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona.*
[b] *Unitat de Patologia General i Mèdica. Departament de Medicina i Cirurgia Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona.*
[c] *Servicio de Ganadería. Diputación Foral de Bizkaia, 48014-Bilbao.*

INTRODUCCIÓN

Las actuales razas de asnos, según la mayoría de autores, provendrían de dos tipos fundamentales, el *Equus asinus africanus* y el *Equus asinus europeus*. Cuatro de las cinco razas estudiadas: *Asno de las Encartaciones, Catalana, Mallorquina, y Zamorano-Leonesa*, descenderían del tronco europeo, mientras que la raza *Andaluza* sería originaria del africano (Jordana y Folch, 1996). La población asnal española ha ido disminuyendo ininterrumpidamente durante este siglo, debido a diferentes causas (intensa mecanización del campo, despoblamiento de zonas rurales, etc.), lo cual ha llevado a que se encuentren catalogadas, según criterios de la FAO, en el estatus de razas críticas en inminente peligro de extinción. El número efectivo de hembras reproductoras oscila entre 100 y 200 (Com. Pers. Asociaciones de Criadores de Asnos), por lo que, sin ningún tipo de acción serían inevitables las continuas pérdidas de variabilidad genética en generaciones futuras (Bodó, 1992).

Según la FAO, la caracterización racial de las poblaciones, en sus diferentes vertientes, es punto de inicio fundamental de cualquier Programa de Conservación que se quiera instaurar. Es por ello, que aquí presentamos los resultados obtenidos de dicha caracterización, a nivel hematológico, bioquímico clínico y morfológico, de estas cinco razas de asnos españolas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio de los parámetros hematológicos (15 variables analizadas) y bioquímico clínicos (11 variables analizadas) se realizó sobre un total de 408 animales distribuidos de la siguiente manera: 52 Andaluces, 74 Encartaciones, 118 Catalanes, 73 Mallorquines y 91 Zamorano-Leoneses; según edades (adultos>3años y jóvenes<3años) y sexos. Las muestras sanguíneas se obtuvieron mediante punción yugular, utilizando tubos de vacío con EDTA-K3 como anticoagulante. El hemograma se realizó mediante un analizador semiautomático de impedancia eléctrica, a excepción del valor hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), y concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH), que se determinaron manualmente. El recuento diferencial de leucocitos se realizó sobre un total de 100 leucocitos, a partir de extensiones de sangre teñidas con una tinción tipo Romanowky modificada. Las proteínas plasmáticas totales se determinaron mediante refractometría. La determinación de las 11 variables bioquímicas se realizó mediante un autoanalizador COVAS MIRA, con el uso de 'kits' comerciales.

El análisis morfológico se llevó a cabo sobre un total de 317 individuos adultos (>3 años) de ambos sexos, a partir de 26 variables morfométricas tomadas mediante bastón zoométrico, compás de brocas y cinta métrica. Adicionalmente se obtuvieron 12 índices zoométricos a partir de dichos datos.

Utilizando el paquete estadístico SAS (SAS, 1990) se obtuvieron, para los tres tipos de variables, los estadísticos de tendencia central y de dispersión para cada población, y se analizaron los efectos raza, sexo, edad y sus interacciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron diferencias significativas para el efecto raza en todas las variables hematológicas y bioquímicas, a excepción de las proteínas plasmáticas y las plaquetas. Estos parámetros podrían también estar influidos por otros efectos ambientales no considerados en nuestro estudio, como pudieran ser el geográfico, el estado nutricional y la actividad física (Fowler y Zinkl, 1989).

Para el efecto edad, en los parámetros hematológicos, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en todas las variables, a excepción de la CCMH, monocitos, neutrófilos en banda y plaquetas. La concentración de hemoglobina, valor hematocrito, VCM, HCM, eosinófilos, basófilos y proteínas totales, aumentaron con la edad. Allen y Archer (1976), proponen que la disminución en el recuento de eritrocitos con la edad, se acompaña de un incremento en la concentración de hemoglobina y un aumento compensatorio en el tamaño de los eritrocitos. Por el contrario los leucocitos, linfocitos, neutrófilos segmentados y recuento eritrocitario, fueron más elevados en animales jóvenes que en adultos. La disminución del recuento leucocitario con la edad, se debe probablemente a que el sistema inmunológico está en pleno desarrollo en animales jóvenes (Zinkl y col., 1990) y el incremento de los eosinófilos y proteínas plasmáticas al resultado de una mayor experiencia inmunológica y al incremento de las γ globulinas con la edad (Brown y Cross,1969; Zinkl y col., 1990).

En ocho de las once variables bioquímicas estudiadas (CK, GGT, AST, LDH, triglicéridos, colesterol, urea, creatinina, bilirrubina, fósforo y albúmina), se observaron diferencias estadísticamente significativas para el efecto edad. Las enzimas CK, GGT y LDH, el fósforo inorgánico y el colesterol fueron más elevadas en los animales jóvenes. El mayor ejercicio físico, actividad muscular y metabolismo óseo en animales jóvenes, justificaría el incremento de las enzimas musculares. Los triglicéridos, la albúmina y la urea, fueron más elevados en adultos. Durante los primeros años de vida, existe una mayor demanda de aminoácidos para la formación de enzimas y proteínas estructurales, lo que conlleva un menor nivel de urea en animales jóvenes (Bauer y col., 1984).

Referente al factor sexo, en los parámetros hematológicos, se encontraron muy pocas variables con diferencias significativas; únicamente recuento eritrocitario, hemoglobina, valor hematocrito, VCM y HCM. Los valores del hematocrito y concentración de hemoglobina, superiores en machos, se deben probablemente al efecto de la testosterona como estimulante de la secreción de eritropoyetina (Allen, 1986) o a una simple cuestión de manejo y alimentación preferencial de los machos con respecto a las hembras. En los parámetros bioquímicos, tan sólo dos (GGT y Colesterol), de las once variables estudiadas, fueron significativamente distintas entre sexos. En la mayoría de literatura revisada (Zinkl y col.,1990; Orlandi y col.,1997; Jordana y col.,1998) no se encontraron diferencias para estos parámetros. Sin embargo, otros autores postulan que de existir diferencias, éstas serían debidas a las oscilaciones que pueden presentar las hembras con motivo de la gestación y la lactación (Giorgetti y col., 1986). Los rangos de referencia, hematológicos y bioquímicos, descritos en nuestro estudio, son similares a los obtenidos por otros autores, tanto en la especie asnal como caballar (Brown y Cross, 1969; Zinkl y col., 1990; Orlandi y col., 1997; Folch y col., 1997; Jordana y col., 1998).

En cuanto a la caracterización morfológica, la Tabla 1 refleja las medias obtenidas para el global de la raza (machos y hembras conjuntamente). Todas las poblaciones presentan un mayor o menor dimorfismo sexual, siendo éste menos marcado en la raza Andaluza, por lo que dichos valores de referencia tendrían que darse por sexos (datos no mostrados). El interés de la tabla se centra en el análisis del factor raza sobre la morfología. De los resultados de la tabla y del análisis de significación, podemos observar que la raza Asno de las Encartaciones es la que muestra mayor divergencia con todas las demás, siendo los grupos más consistentes el formado por Catalanes y Mallorquines y Catalanes y Zamoranos.

Las correlaciones entre variables resultaron ser altas y significativas, sobretodo a nivel intra-regional (cabeza, tronco y extremidades), siendo las más elevadas las correspondientes a las alzadas (datos no mostrados).

Tabla 1. Valores medios para las 26 variables morfométricas en el global de la raza (machos y hembras) para las cinco razas consideradas.

Raza	*Andaluza*	*Catalana*	*Mallorquina*	*Encartaciones*	*Zam-Leonesa*
Variable	**Media ± SD**	**Media ± SD**	**Media ± SD**	**Media ± SD**	**Media ± SD**
Oreja	33,7 ± 3,1 ^{a}	33,7 ± 2,9 ^{a}	30,1 ± 1,8 ^{b}	26,2 ± 2,6 ^{c}	30,7 ± 2,6 ^{b}
Al.cruz	147,5 ± 6.6 ^{a}	137,8 ± 7,8 ^{b}	132,2 ± 7,8 ^{c}	113,1 ± 5,9 ^{d}	137,8 ± 6,0 ^{b}
Al.grupa	145,1 ± 6,0 ^{a}	136,9 ± 7,4 ^{b}	132,3 ± 6,9 ^{c}	113,5 ± 6,2 ^{d}	135,3 ± 6,5 ^{bc}
Al.nac.cola	139,1 ± 4,6 ^{a}	128,6 ± 8,0 ^{b}	124,5 ± 7,0 ^{c}	106,0 ± 5,3 ^{d}	128,3 ± 6,6 ^{b}
Al.dorso	143,1 ± 6,3 ^{a}	134,2 ± 7,2 ^{b}	129,6 ± 7,5 ^{c}	110,4 ± 5,9 ^{d}	133,2 ± 6,5 ^{b}
Al.pelvis	147,4 ± 5,4 ^{a}	138,6 ± 7,8 ^{b}	133,7 ± 7,2 ^{c}	115,1 ± 6,1 ^{d}	137,6 ± 6,4 ^{b}
Diam.long.	150,9 ± 6,8 ^{a}	144,5 ± 9,4 ^{b}	135,0 ± 10,3 ^{d}	118,2 ± 7,7 ^{e}	141,3 ± 6,6 ^{c}
Diam.dorsest.	65,1 ± 3,3 ^{a}	59,1 ± 3.9 ^{bc}	57,9 ± 4,5 ^{c}	49,5 ± 3,3 ^{d}	60,8 ± 3,2 ^{b}
Diam.encuent.	34,9 ± 3,5 ^{a}	32,1 ± 3,7 ^{c}	30,8 ± 3,2 ^{c}	27,9 ± 3,3 ^{d}	33,8 ± 2,4 ^{b}
Diam.bicostal	51,8 ± 6,8 ^{a}	42,1 ± 5,6 ^{c}	47,2 ± 5,8 ^{b}	41,9 ± 5,1 ^{c}	51,4 ± 4,8 ^{a}
Al.palomillas	150,0 ± 5,1 ^{a}	140,2 ± 7,4 ^{b}	135,7 ± 7,8 ^{c}	117,0 ± 6,2 ^{d}	140,2 ± 6,2 ^{b}
Anch.grupa	47,1 ± 4,2 ^{a}	42,3 ± 3,7 ^{c}	42,1 ± 4,0 ^{c}	37,4 ± 3,3 ^{d}	45,7 ± 3,0 ^{b}
Long.grupa	48,7 ± 3,6 ^{a}	44,4 ± 3,6 ^{c}	46,6 ± 4,2 ^{b}	40,2 ± 3,1 ^{d}	49,0 ± 4,1 ^{ab}
Long.cabeza	63,8 ± 3,5 ^{a}	59,2 ± 3,8 ^{bc}	58,6 ± 3,7 ^{c}	50,9 ± 3,4 ^{d}	60,8 ± 3,1 ^{b}
Anch.cabeza	21,9 ± 2,5 ^{a}	22,2 ± 3,7 ^{a}	18,5 ± 1,2 ^{c}	17,0 ± 1,1 ^{d}	20,2 ± 1,8 ^{b}
Prof.cabeza	39,9 ± 2,9 ^{a}	38,5 ± 3,7 ^{a}	32,6 ± 5,6 ^{c}	29,9 ± 2,4 ^{d}	37,9 ± 2,9 ^{b}
Long.cara	39,7 ± 3,1 ^{a}	36,8 ± 5,9 ^{b}	39,4 ± 3,2 ^{a}	34,4 ± 3,3 ^{c}	39,9 ± 3,9 ^{a}
Perim.torácico	181,2 ± 15,7 ^{a}	155,4 ± 9,2 ^{c}	155,9 ± 15,1 ^{c}	137,8 ± 10,6 ^{d}	167,4 ± 12,2 ^{b}
Perim.rodilla	31,7 ± 1,9 ^{a}	30,5 ± 3,2 ^{b}	28,6 ± 2,8 ^{c}	25,5 ± 2,2 ^{d}	30,1 ± 2,2 ^{b}
Perim.corvej.	41,1 ± 2,4 ^{a}	38,6 ± 3,3 ^{b}	36,7 ± 3,0 ^{c}	31,7 ± 3,0 ^{d}	38,8 ± 3,0 ^{b}
Perim.caña	19,4 ± 1,2 ^{a}	18,4 ± 1,8 ^{b}	17,9 ± 1,0 ^{bc}	17,4 ± 1,1 ^{c}	19,4 ± 1,8 ^{a}
Perim.menud.	25,4 ± 2,0 ^{a}	24,2 ± 2,4 ^{b}	23,3 ± 1,6 ^{c}	21,2 ± 1,2 ^{d}	24,8 ± 2,2 ^{ab}
Perim.cuartilla	19,4 ± 1,3 ^{b}	18,1 ± 2,4 ^{c}	18,1 ± 1,1 ^{c}	17,4 ± 0,8 ^{d}	20,2 ± 1,8 ^{a}
Perim.corona	28,1 ± 2,1 ^{ab}	28,8 ± 3,6 ^{a}	24,8 ± 2,1 ^{c}	21,9 ± 1,4 ^{d}	27,4 ± 3,2 ^{b}
Long.cráneo	27,8 ± 2,9 ^{a}	28,1 ± 3,9 ^{a}	22,4 ± 3,0 ^{c}	19,8 ± 1,7 ^{d}	25,8 ± 4,1 ^{b}
Anch.cráneo	22,0 ± 2,0 ^{a}	21,0 ± 2,0 ^{b}	21,2 ± 1,5 ^{b}	18,7 ± 1,1 ^{e}	21,7 ± 2,2 ^{a}

Valores con diferente letra en la misma fila presentan diferencias significativas ($p<0.05$)

BIBLIOGRAFÍA

Allen B.V. (1986). Vet. Rec., 118: 555-556.
Allen B.V., Archer R.K. (1976). Vet. Rec., 98: 195.
Bauer J. E., Harvey J.W., Asquit R.L., McNultry P.K., Kivipelto J. (1984). Equine Vet. J., 16(4): 361-363.
Bodó I. (1992). The management of global animal genetic resources. Hodges J. (ed.), FAO, Rome, pp. 91-105.
Brown D.G., Cross F.H. (1969). Am. J. Vet. Res., 30: 1921-1927.
Folch P., Jordana J., Cuenca R. (1997). Vet. J., 154: 163-168.
Fowler M.E., Zinkl J. G. (1989). Am. J. Vet. Res., 50: 2049-2053.
Giorgetti A., Lucifero M., Lupi P., Zappa A. (1986). Zootecnia e Nutrizione Animale, 12 (1): 63-72.
Jordana J., Folch P. (1996). J. Equine Vet. Sci., 16: 436-441.
Jordana J., Folch P., Cuenca R. (1998). Res. Vet. Sci., 64: 7-10.
Orlandi M., Curadi M.C., Leotta R., Impeduglia R., Benedetti R. (1997). Stocarstvo, 51 (6): 443-447.
SAS (1990). SAS/STAT User's Guide. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
Zinkl J.G., Mae D., Guzman P., Farver T.B., Humble J.A. (1990). Am. J. Vet. Res., 51: 408-413.

AGRADECIMIENTOS: Trabajo financiado por la CICYT, AGF98-0503 y el DARP.

Estructura del gen de la miostatina bovina.

L.J. Royo[1,2], L. Grobet[2], D.Poncelet[2], D. Pirottin[2], V. Marot[2], B. Brouwers[2], S. Dunner[3], M. Georges[2].

1 Sección de Mejora Genética, CENSYRA-SERIDA-Somió, 33203-Gijón (Asturias); 2 Departament of genetics, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege (B43), 20 Bd. De Colonster, 4000- Liege, Belgium; 3 Laboratorio de Genética, Dpto. Producción Animal, U.C.M. 28040 Madrid.
E-mail: luisroma@princast.es

INTRODUCCIÓN.

El gen de la miostatina bovina ha sido propuesto como el gen responsable del carácter culón en varias razas europeas (Grobet y col., 1997; Kambadur y col., 1997; McPherron y Lee 1997). Se han identificado 6 mutaciones en la secuencia codificante de la miostatina en 10 razas europeas (Kambadur y col., 1997; McPherron y ocl., 1997; Grobet y col., 1998; Cappuccio y col., 1999), sin embargo no se ha encontrado ninguna mutación que permita explicar la cularidad en las razas Limusin y Rubia de Aquitania (Grobet y col., 1998). Estos resultados contradicen la tradicional hipótesis de que el carácter culón se habría originado por una mutación en el ganado Shorthorn y a partir de él se habría extendido al resto de razas vacunas europeas (Ménissier, 1982). Ciertas razas muestran una clara homogeneidad respecto a la mutación causante del fenotipo, como pueden ser la Blanco-Azul-Belga o la Asturiana de los Valles, sin embargo en otras existe más de un alelo culón segregando en la población, como en la raza Maine-Anjou.

La identificación de las mutaciones responsables del carácter culón permite, por un lado, diseñar protocolos de diagnóstico para identificar a los animales heterocigotos y llevar a cabo una selección asistida por marcadores; y por otro diseñar estrategias de modificación del gen.

Se han secuenciado 17.417 pb. de la secuencia de la miostatina bovina. El estudio de la secuencia ha permitido identificar los tres exones que forman la secuencia codificante completa, los 2 intrones que la interrumpen, y 5 kb. de cada región flanqueante. Esto permitirá, por una parte, buscar posibles mutaciones fuera de la secuencia codificante que puedan explicar el fenotipo culón en las razas antes indicadas, y aceptar o rechazar la hipótesis de una heterogeneidad de locus en el determinismo genético de la cularidad. Además servirá para caracterizar el gen de la miostatina bovina y sus regiones flanqueantes, siendo el punto de partida para posteriores estrategias de modificación del gen por transgénesis.

La recombinación homóloga es una estrategia utilizada para modificar genes, que permite sustituir una región del genoma por otra región externa modificada según los intereses del trabajo. El éxito de esta técnica depende sobre todo de dos factores: el tamaño del fragmento que se va a intercambiar, y el porcentaje de homología entre los dos fragmentos.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Para secuenciar el gen de la miostatina bovina se analizaron por hibridación dos genotecas de ADN genómico comerciales en fago λ (Clontech BL1015j y Stratagene 946702), utilizando como sonda el ADN codificante de la miostatina bovina obtenido por RT-PCR de ARN total muscular (Grobet y col., 1997). Se identificaron dos clones positivos que juntos daban lugar a una secuencia de tamaño suficiente, para contener el ADN codificante completo más 4-6 kb. en 5' y 3' del gen.

Se caracterizaron los clones mediante PCR utilizando oligos específicos de la secuencia bovina y los brazos del vector de clonado.

Se obtuvieron por *Long-PCR* utilizando un oligo del vector y otro del interior de la secuencia dos fragmentos que permitían tener una secuencia suficientemente larga a cada lado de la secuencia conocida de la miostatina, como para contener las regiones no traducidas del gen y parte de secuencia genómica. Estos fragmentos se secuenciaron utilizando una estrategia combinada de *Shot-gun* y *primer-walking* y se analizaron las secuencias resultantes con las aplicaciones informáticas Phred/Phrap/Consed (Ewing y col., 1998; Ewing y Green, 1998; Gordon y col., 1998).

Los limites de los transcritos se determinaron mediante las técnicas de c-RACE (Maruyama y col., 1995) y RACE-3'(Life Technologies) a partir de ARN extraído a partir de músculo (Chirgwin y col., 1979).

La secuencia completa resultante se utilizó para buscar homologías utilizando el programa BLASTN del paquete GCG.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Para determinar las uniones intrón-exón se alineó la secuencia del ADN codificante bovino con la secuencia obtenida. Los límites de los dos intrones siguen la regla del GT-AG, y en su interior se observaron dos secuencias consenso (YNRAY) situados a una distancia apropiada para determinar el lugar de procesamiento o maduración de los intrones.

El protocolo de c-RACE identificó dos posibles lugares de inicio de la transcripción, situados a 109 pb. y 136 pb. en 5' del codon de inciación ATG, este segundo corresponde al lugar de iniciación identificado por McPherron y col., en la secuencia de ratón. El codon de iniciación no estaba situado en un contexto óptimo, sino en un contexto adecuado GCCACCatgG (Kozak, 1996). Continuando la secuencia en 5' se identificaron una TATA-box y una CAAT-box situadas a distancia compatible con los lugares de iniciación descritos.

Se han identificado 3 posibles lugares de poliadenilación en la zona 3' del gen, situados a 959 pb., 1438 pb. y 1509 pb. a partir del codon stop. Los tamaños de los productos PCR de cada fragmento están en concordancia con las secuencias genómicas, lo que indica que no existen procesos de maduración alternativos dentro del gen. Los tres están precedidos por una secuencia consenso de poliadenilación, situada entre 23 pb., y 17 pb. antes del final del transcrito.

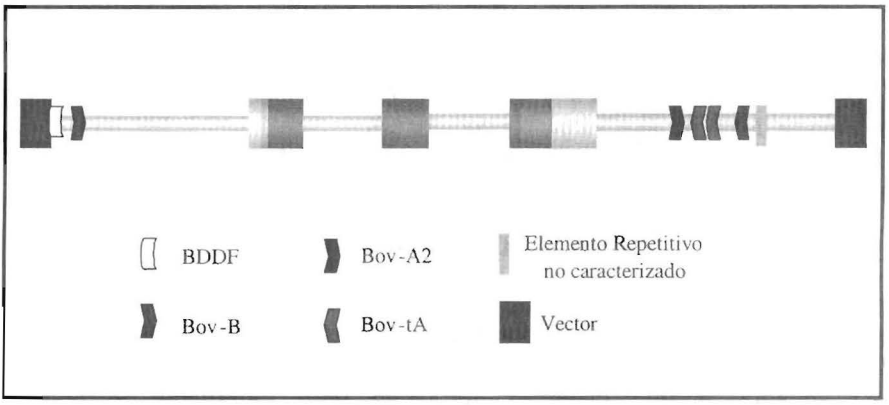
El análisis de la secuencia completa buscando homologías, puso de manifiesto la presencia de varios elementos repetitivos dispersos. Siguiendo la nomenclatura propuesta por Lenstra y col., 1993, se localizaron en la región 5' un SINE Bov-B y un fragmento de un retroelemento BDDF (Szemarj y col., 1995). En la región 3' del gen se localizaron dos SINE Bov-A2 y dos Bov-tA, además de otro elemento repetitivo no caracetrizado (Figura 1).

Se han secuenciado 17.417 pb. de la secuencia de la miostatina bovina y regiones flanqueantes. Dentro de esta secuencia se han determinado, además de la secuencia codificante, las uniones exón-intrón y los posibles límites de los transcritos. Todos los resultados obtenidos están en perfecto acuerdo con el tamaño del ARN mensajero de la miostatina bovina estimado por Kambadur y col., 1997.

Para el desarrollo de proyectos posteriores encaminados a la modificación del gen de la miostatina bovina, resulta imprescindible el conocimiento de una secuencia de suficiente tamaño. De igual modo es importante determinar su secuencia. El

conocimiento de la estructura y de la secuencia de las regiones flanqueantes del gen, será el punto de partida que permitirá el desarrollo de protocolos de modificación de la miostatina bovina.

- Figura 1. Localización y orientación de los elementos repetitivos en la secuencia bovina.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Capuccio I., Marchitelli C., Serracchioli A., Nardone A., Filippini F., Ajmone-Marsan P., Valentini A. (1998). *Animal Genetics*, **29** (suppl. 1): 51.
- Chirgwin, J.M., Przybyla, A.E., MacDonald, R.J., Rutter, W.J. (1979). *Biochemistry*, **18**: 5294-5299.
- Ewing, B., Hillier, L., Wendl, M.C., Green, P. (1998). *Genome Research*, **8(3)**:175-185.
- Ewing, B. y Green, P. (1998). *Genome Research*, **8(3)**:186-194.
- Gordon, D., Abajian, C., Green, P. (1998). Genome Research 8(3): 195-202.
- Grobet L., Royo L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoberlein A., Dunner S., Menissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M. (1997). *Nature Genetics*, **17**: 71-74.
- Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Menissier F., Zanotti M., Dunner S., Georges M. (1998). *Mammalian Genome*, **9**: 210-213.Kambadur R.,
- Kozak M. (1996). *Mammalian Genome*, **7**: 563-574.
- Lenstra J.A., van Boxtel J.A.F., Zwaagstra K.A., Schwerin M. (1993). *Genetics*, **24**: 33-39.
- Maruyama I.N., Rakow T.L:, Maruyama H.I.(1995). *Nucleic Acids Research*, **23**: 3796-3797.
- McPherron A.C., Lee S.-J. (1997). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**: 12457-12461.
- McPherron A.C., Lawler A.M., Lee S.-J. (1997). *Nature*, **387**: 83-90.
- Ménissier F. (1982). *In Current topics in Veterinary Medicine and Animal Science, vol 16: Muscle hypertrophy of genetic origin and its use to improve beef production.* Ed. King and Ménissier, *Curr. Top. Vet. Anim. Sci.*, **16**: 387-428.
- Szemraj J., Plucienniczak G., Jaworski J, Plucienniczak A. (1995). *Gene*, **152**: 261-264.

ANALISIS DE *IMPRINTING* EN CARACTERES DE CALIDAD DE CANAL, CARNE Y ACIDOS GRASOS EN UN CRUCE F2 IBERICO x LANDRACE

L Varona[1], A Sánchez[2], M C Rodriguez[3], A Clop[2], C Ovilo[3],A Coll[2], C Barragán[3], M A Oliver[4], D Babot[1], I. Diaz[4], M A Toro[3], J M Folch[2], M Pérez-Enciso[1], L. Silió[3], J L Noguera[1]
[1]Area de Producció Animal. Centre UdL-IRTA. 25198. Lleida. [2]Unitat de Genètica y Millora, Facultad de Veterinaria, UAB. 09193. Bellaterra, Barcelona. [3]Area de Mejora Genética y Biotecnología. CIT-INIA. 28040. Madrid. [4] IRTA. Centre de Tecnologia de la Carn,. 17121. Monells, Girona

INTRODUCCION

Recientemente se ha descubierto un importante número de genes en animales que muestran *imprinting* (Morrison et al., 2001). Este fenómeno se produce por una metilación específica en los gametos que inhibe la expresión de uno de los dos genes paternos (Sleutels et al., 2000). Además, Nezer et al. (1999), Jeon et al. (1999), De Koning et al. (2000) detectan un importante efecto de *imprinting* en QTLs para composición corporal en poblaciones porcinas. El objetivo del presente trabajo es contrastar estos resultados en un cruce Ibérico x Landrace, cuyos resultados han sido previamente analizados sin tener en cuenta el efecto de *imprinting* (Pérez-Enciso et al., 2000; Ovilo et al, 2000; Clop et al, 2001).

MATERIAL Y METODOS

El material experimental se constituyó a partir de 3 machos ibéricos de la línea Guadyerbas y 31 hembras de raza Landrace. Se obtuvieron 577 individuos F2, procedentes de 7 machos y 73 hembras F1. En este trabajo se presentan los resultados de 321 individuos F2 pertenecientes a 58 familias de hermanos completos en los cromosomas 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 13, 16 y 17 y de 351 individuos F2 pertenecientes a 63 familias para el resto de cromosomas, genotipados para 97 microsatélites. Las medias y desviaciones estándar fenotípicas de los caracteres analizados se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores fenotípicos de los caracteres analizados en animales F2.

SIMBOLO	DESCRIPCION	MEDIA	D.T.
P	Peso canal al sacrificio (kg.)	74.90	9.82
G2	Espesor de tocino dorsal (mm.) Fat-O-Meter	25.75	5.85
pH24	pH 24 H.	5.91	0.30
Long.	Longitud de la canal (cm.)	79.26	3.96
PJ	Peso Jamón Derecho (kg.)	10.89	1.37
PG	Peso Panceta (kg.)	2.51	0.76
a*	Rojo (medida Minolta)	6.53	1.73
b*	Amarillo (medida Minolta)	3.40	1.45
L*	Luminosidad.(medida Minolta)	48.85	3.95
PRL34	Profundidad Lomo entre 3ª y 4ª costilla con regleta (mm.)	47.49	6.38
PRG34	Espesor Grasa entre 3ª y 4ª costilla con regleta (mm.)	28.32	7.91
% GIM	% de grasa intramuscular en el musculo Longisimus lumbor	1.47	0.53
AL	Area del Lomo entre 3ª y 4ª costilla (cm^2)	34.66	5.03
Hem.	Pigmentos Hemo µg/g músculo.	29.49	6.63
C18:1(n-9)	% Ac. Oleico.	44.12	1.67
C18:2	% Ac. Linoleico.	14.43	1.45
ACL	Longitud de cadena media de Ac. Grasos.	17.50	0.04
DBI	Índice de doble enlace en Ac. Grasos.	0.84	0.03
PI.	Indice teórico de susceptibilidad a la oxidación.	18.49	1.60
UI	Índice de insaturación.	2.52	0.23

Se realizó un barrido genómico a lo largo de los 18 autosomas porcinos cada cM. Se utilizaron dos modelos de análisis para contrastar el efecto de *imprinting*. Por una parte, se utilizó un modelo (Mod. I) que incluye un efecto genético aditivo y un efecto genético de dominancia:

$$y = S_i + F_j + b \times P_{ijk} + a \times (pr(QQ) - pr(qq)) + d \times (pr(Qq) + pr(qQ)) + e_{ijk}$$

donde *Si* es el efecto asociado al sexo, *Fj* es el efecto familia, *b* es una covariada relacionada con el peso canal del individuo (*Pijk*), *a* es el efecto aditivo, *d* es el efecto dominante, *pr(QQ)* es la probabilidad de recibir los dos alelos en esa posición de origen Iberico, *pr(qq)* es la probabilidad de recibir los dos alelos de origen Landrace, *pr (Qq)* es la probabilidad de recibir el alelo paterno de origen Ibérico y el materno Landrace, *pr(qQ)* es la probabilidad de recibir el alelo paterno de origen Landrace y el alelo materno de origen Ibérico. Los valores *pr(QQ)*, *pr(Qq)*, *pr(qQ)* y *pr(qq)* se han calculado condicionados a 97 marcadores moleculares distribuidos uniformemente cada 20 cM a lo largo del genoma.

También se ha utilizado un segundo modelo (Mod. II), equivalente al aplicado por De Koning (2000), que permite asociar efectos diferentes a los dos tipos de heterocigotos:

$$y = S_i + F_j + b \times P_{ijk} + a \times (pr(QQ) - pr(qq)) + d_1 \times pr(Qq) + d_2 \times pr(qQ) + e_{ijk}$$

Con los resultados de este segundo modelo se ha realizado un test de comparación de medias, entre los efectos asociados a cada tipo de heterocigoto, mediante el cálculo del siguiente estadístico:

$$t = \frac{d_1 - d_2}{\sqrt{\sigma^2_{d1} - \sigma^2_{d2}}}$$

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos con el Modelo I se presentan en la Tabla 2. Se han encontrado 20 efectos significativos a lo largo de los 18 autosomas porcinos, teniendo en cuenta umbrales de significación al 5%(*), 1% (**) y 0.1%(***) a nivel genómico. Estos umbrales de significación se calcularon mediante técnicas de permutación (Chuchill y Doerge, 1994). Los 20 efectos pueden ser asociados a 7 posibles genes de expresión cuantitativa (QTL). En el cromosoma 2 se detecta un QTL en torno a la posición 60 que afecta al área del lomo. En el cromosoma 4 se detectan, por una parte, un QTL en torno a la posición 70, relacionado con el metabolismo de ácidos grasos y la cantidad de grasa de la canal, manteniendo constante el porcentaje de grasa intramuscular, y, por otra parte, un QTL alrededor de la posición 110 que afecta al color de la canal. En el cromosoma 6 se observa un QTL que afecta a la cantidad de grasa, porcentaje de grasa intramuscular y composición de ácidos grasos, y otro en torno a la posición 30 que afecta al índice de insaturación. En los cromosomas 7 y 8 se observan posibles genes asociados a la cantidad de pigmentos y a la composición de ácidos grasos, respectivamente.

El análisis con el Modelo II, que permite detectar efectos de *imprinting*, se realizó para los 20 caracteres en los 18 autosomas porcinos, ofreciendo resultados significativos al 5% en 19 casos, dentro del margen esperado por azar. En particular, en el análisis de los 20 casos que mostraban efecto significativo con el Modelo I, el test de comparación ofreció resultados negativos en todos los casos. Los valores de t oscilaron entre –1.32 y 1.56, siempre por debajo de los umbrales de significación. Por lo tanto, podemos concluir que en el cruce F2 Ibérico x

Landrace descrito no se detecta ningún efecto significativo de *imprinting*, pese a que los caracteres analizados son, en algunos casos, similares a los descritos por Nezer et al. (1999), Jeon et al. (1999), De Koning et al. (2000).

Tabla 2. Efectos de QTLs significativos y resultados de *imprinting*.

CHR	CARÁCTER	F	Pos	a (Mod. I)	d (Mod. I)	d_1 (Mod II)	d_2 (Mod. II)	t
2	PRL34	*	54	-2.51±0.56	0.99±0.90	1.90±1.03	0.30±1.06	1.08
2	AL	**	68	-1.84±0.36	0.25±0.52	0.15±0.62	0.37±0.65	-0.24
4	Long.	**	69	-1.03±0.21	0.05±0.33	-0.03±0.42	0.07±0.38	-0.06
4	PRG34	***	71	3.71±0.52	-0.70±0.78	-0.60±1.01	-0.76±0.93	0.11
4	DBI	*	73	-1.01±0.23	-0.26±0.33	-0.43±0.44	-0.11±0.39	-0.54
4	C18:2	***	75	-0.65±0.11	-0.00±0.16	-0.11±0.21	0.07±0.19	-0.61
4	PI	***	75	-0.74±0.13	-0.05±0.19	-0.18±0.25	0.05±0.22	-0.69
4	PG	***	75	0.24±0.04	-0.06±0.07	-0.06±0.08	-0.06±0.08	0.03
4	G2	*	90	1.83±0.46	-1.09±0.70	-1.16±0.89	-1.03±0.81	-0.11
4	L*	***	109	-1.84±0.32	0.29±0.53	-0.42±0.67	0.79±0.63	-1.32
4	Hem.	*	109	2.29±0.59	-1.21±0.97	-0.35±1.22	-1.78±1.14	-0.86
6	UI	*	34	-0.06±0.02	-0.11±0.04	0.10±0.03	0.02±0.04	1.56
6	PG	***	100	0.25±0.05	-0.20±0.07	-0.18±0.08	-0.23±0.09	0.40
6	% GIM	***	101	0.34±0.05	-0.17±0.08	-0.24±0.09	-0.10±0.09	-1.08
6	PRG34	***	103	4.49±0.58	-2.36±0.87	-2.43±1.00	-2.27±1.04	0.12
6	DBI	*	105	-0.83±0.26	0.99±0.38	1.44±0.44	0.46±0.44	1.56
6	PRL34	*	111	-1.79±0.52	1.74±0.75	1.94±0.82	1.26±0.84	0.57
6	AL	***	116	-2.02±0.43	1.94±0.66	2.31±0.76	1.53±0.78	0.71
7	Hem.	*	87	2.13±0.54	1.70±0.78	2.51±0.99	0.94±1.01	1.10
8	ACL	**	86	-1.41±0.28	0.42±0.42	-0.04±0.50	0.98±0.53	-1.39

REFERENCIAS

Churchill G A, Doerge R W. 1994. Genetics 138:963-971.

Clop A, Ovilo C, Pérez-Enciso M, Cercos A, Tomás A, Coll A, Folch J M, Barragan C, Díaz I, Oliver M A, Varona L, Sanchez A, Noguera J L. 2001. ITEA (sometido).

De Koning D J, Rattink A P, Harlizius B, Van Arendonk J A M, Brascamp E W, Groenen M A M. 2000. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:7947-7950.

Jeon J., Carlborg O, Tornsten A, Giuffra E, Amarger V, Chardon P, Andersson-Eklund L, Andersson K, Hansson I, Lundstron K, Andersson L. 1999. Nature Genetics 21:157-158.

Morrison I M, Paton C J, Cleverley S D. 2001. Nucleic Acids Research 29:275-276

Nezer C, Moreau L, Brouwers B, Coppieters W, Detilleux J, Hanset R, Karim L, Kvasz A, Leroy P, Georges M. 1999. Nature Genetics 21:155-156.

Ovilo C, Pérez-Enciso M, Barragan C, Clop A, Rodriguez M C, Oliver M A, Toro M A, Noguera J L. 2000. Mamm. Genome 11:344-346.

Pérez-Enciso M, Clop A, Noguera J L, Ovilo C, Coll A, Folch J M, Babot D, Estany J, Oliver MA, Díaz I, Sánchez A. 2000. J. Anim. Sci. 78:2525-2531.

Sleutels F, Barlow D P, Lyle R. 2000. Curr. Opin. Genet. Dev. 10:229-233.

RESPUESTA A LA SELECCIÓN POR TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. II.CARACTERES DE CRECIMIENTO

García, M.L.[1]; Baselga, M.[2]

[1]División de Producción Animal. Dpto. Tecnología Agroalimentaria.U.M.H. Ctra Beniel Km. 3.2. Orihuela 03312.

[2]Dpto. de Ciencia Animal. U.P.V.Camino de Vera 14, Apdo 22012. Valencia 46071

INTRODUCCIÓN

El criterio de selección de las líneas maternales de conejo es normalmente el tamaño de camada al nacimiento o al destete. Sin embargo, es importante tener en cuenta como se ven afectados los caracteres de crecimiento al seleccionar por caracteres reproductivos, por dos motivos principalmente. En primer lugar, porque el gazapo de engorde que es criado en las explotaciones comerciales, proviene de un cruce a tres vías, por lo que su madre cruzada interviene en un 50% en sus caracteres de crecimiento. Algunas líneas de conejo son de aptitud mixta y para mejorar la productividad de las hembras tienen como objetivo de selección el peso total de la camada al destete por hembra y por año (Rochambeau *et al*, 1988) o el peso total de la camada a los 56 días de edad que fue el criterio de selección desde 1979 hasta 1992 en la línea C del IRTA (Rafel *et al*, 1988).

En segundo lugar, autores como Bolet *et al* (1996), Camacho (1989), Garreau *et al* (2000), Rochambeau *et al* (1994) han descrito correlaciones genéticas y fenotípicas entre caracteres de crecimiento y reproductivos negativas o cercanas a cero. Rochambeau (1998) indica una tendencia genética de 0.07 destetados por generación en la línea 1077 seleccionada por este carácter y de 0.12 nacidos vivos por generación para la línea 2066 pero al mismo tiempo obtiene una disminución del peso individual al destete de 3.4 gr. y 4.4 gr. por generación para cada línea.

El objetivo de este trabajo es estimar la respuesta correlacionada a la selección en una línea de conejos seleccionada por tamaño de camada al destete, haciendo uso de la crioconservación de embriones que permitie la comparación contemporánea de animales pertenecientes a generaciones diferentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

La línea A tiene su origen en animales de la raza Neozelandés blanco. Fue fundada en 1980 y desde entonces se está seleccionado por el tamaño de camada al destete mediante un índice familiar con información variable (Baselga *et al*, 1984). Los dos grupos de animales que intervinieron en la experiencia fueron el grupo de referencia (A17) procedente de embriones crioconservados de la generación 17 de la línea A (García *et al*, 2000b) y el grupo actual (A26) constituido por animales de la generación 26 de la misma línea.

Los caracteres controlados individualmente fueron el peso al destete (W_0), el peso al final del periodo de engorde (W_5) y la ganancia diaria durante la fase de cebo (DG).

El modelo mixto utilizado tiene el número de gazapos al nacimiento como covariable, como efectos fijos el grupo (actual; A26 y de referencia; A17), la estación del año con 5 niveles, el orden de parto con tres niveles; primer parto, segundo parto o partos superiores, el efecto de la vitrificación, y por último los efectos aleatorios fueron el valor aditivo del animal, relacionados

en la matriz de parentesco a través de sus padres, el efecto materno no genético y el residuo.

En el momento de producirse el destete, los gazapos son tatuados y pasan a la nave de engorde donde son cebados desde los 28 hasta los 63 días de edad. En la nave de engorde, los animales son colocados en jaulas colectivas formadas por 9 animales. El índice de conversión (CI) y la ingestión de pienso (FC) se han calculado como valores medios de los *n* animales que se encontraban en la jaula, variando *n* desde 7 hasta 9.

La ingestión de pienso fue analizada con el mismo modelo que para los caracteres individuales pero teniendo en cuenta la proporción de individuos que existe en una jaula para cada efecto fijo o aleatorio y la media de las covariables. El modelo mixto utilizado para el índice de conversión además incluye la covariable del peso individual del gazapo al sacrificio.

En la tabla 1 se indican los parámetros genéticos utilizados para la resolución de los modelos anteriores, obtenidos a partir de Estany *et al* (1992).

Tabla 1.- Heredabilidad (h^2) y componente materna no genética (m^2) utilizada para la resolución del modelo mixto en los distintos caracteres.

Carácter[1]	W_0	W_5	DG	FC	CI
h^2	0.13	0.20	0.25	0.20	0.20
m^2	0.17	0.10	0.05	0.10	0.10

[1] W_0, peso al destete; W_5 peso al sacrificio; DG, ganancia diaria; FC, ingestión de pienso; CI índice de conversión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se indican los resultados para el grupo actual y de referencia. Para un tamaño de camada al nacimiento constante no se observan diferencias significativas entre los dos grupos para los caracteres de crecimiento estudiados. Estos resultados están en concordancia con los presentados por (García *et al*, 2000a) para otra de las líneas maternales de conejo que se selecciona también en la Universidad de Politécnica de Valencia por tamaño de camada al destete, donde tampoco se obtuvo respuesta correlacionada a la selección en los pesos individuales de los conejos, en la velocidad de crecimiento, en la ingestión de pienso ni en el índice de conversión. Aunque las estimas obtenidas para esta línea fueron sensiblemente inferiores a las de la línea A para el peso al destete (480 gr.) y para el peso al sacrificio (1850 gr.), y similares para el resto de caracteres.

Con respecto a la covariable nacidos totales, fue significativa para los pesos y la ingestión de pienso, y en todos los casos negativa. Para el índice de conversión el valor de la segunda covariable, peso al sacrificio, fue 0.0003 ± 0.0001, que también fue significativa y su valor medio fue 1965 gr.

En la tabla 3 se indican los resultados para el efecto fijo orden de parto con tres niveles. Para el peso al destete y al sacrificio y la ingestión de pienso se observa el efecto depresor del primer parto de la hembra sobre los caracteres de crecimiento de sus gazapos, aspecto que es indicado también por Gómez *et al* (1998).

La creación y gestión de un banco de embriones de conejo ha evitado los problemas del mantenimiento y coste de una población control sin seleccionar para la estima de la respuesta a la selección en experiencias de mejora a largo plazo. Respecto a la aproximación de la evaluación de la respuesta mediante el cálculo de las tendencias genéticas utilizando la

metodología del modelo mixto, la ventaja que se tiene es la no dependencia del modelo ni de los parámetros genéticos correpondientes (Thompson, 1986).

Tabla 2.- Medias mínimo cuadráticas generalizadas para los grupos de referencia y actual(A17, A26) y efecto de la covariable (tamaño de la camada al nacimiento, gr./gazapo) para los pesos al destete (W_0) y al sacrificio (W_5), la ganancia diaria (DG), la ingestión de pienso (FC) y el índice de conversión (CI).

Carácter	A17[1]	A26	Covariable[2]
W_0 (gr.)	653 ± 11	633 ± 10	-29.0 ± 1.4
W_5 (gr.)	2002 ± 25	1971 ± 25	-28.6 ± 3.3
DG (gr./ día)	38.2 ± 0.6	37.9 ± 0.6	-0.0007± 0.0751
FC (gr./ día)	104.1 ± 3.3	104.5 ± 3.3	-1.57 ± 0.57
CI (gr./gr.)	2.72 ± 0.06	2.78 ± 0.06	-0.015 ± 0.011

[1] Medias dentro de un mismo carácter con distintas letras son estadísticamente diferentes (P<5%). [2] Media de la covariable = 8.9 gazapos. El efecto de la covariable es significativo (P<5%).

Tabla 3.- Efecto del orden de parto (OP) para los caracteres: peso al destete (W_0); peso a los 63 días (W_5); ganancia diaria (DG_5), ingestión de pienso (FC_5) e índice de conversión (CI_5) en el periodo de engorde, para la línea A.

Carácter	OP=1	OP=2	OP>2
W_0 (gr.)	605^{a} ± 11	654^{b} ± 10	671^{c} ± 9
W_5 (gr.)	1937^{a} ± 26	1999^{b} ± 25	2022^{b} ± 21
DG (gr./ día)	37.7 ± 0.6	38.2 ± 0.6	38.3 ± 0.5
FC (gr./ día)	99.9^{a} ± 3.5	105.2^{ab} ± 3.5	107.6^{b} ± 2.9
CI (gr./gr.)	2.72 ± 0.06	2.72 ± 0.06	2.81 ± 0.05

[a,b,c]; Medias dentro de una misma fila con diferentes superíndices indican diferencias significativas (P<5%).

BIBLIOGRAFIA

BASELGA, M.; BLASCO, A.; ESTANY, J.1984. 3rd World Rabbit Congress, vol. I:62-65. Roma, Italia.

BOLET, G.; ESPARBIÉ, J.; FALIÈRES, J. 1996. Ann. Zootech. 45 : 185-200.

CAMACHO, J.1989. Tesis Doctoral U.P. Valencia.

ESTANY, J.; CAMACHO, J.; BASELGA, M.; BLASCO, A.1992. Génét. Sél. Evol,24:527-537.

GARCÍA, M.L.; BASELGA, M.; PEIRÓ, R. 2000a.7th World Rabbit Congress, Vol. A: 389-395. Valencia-Spain.

GARCÍA, M.L.; VIUDES DE CASTRO, M.P.; VICENTE, J.S.; BASELGA, M. 2000b.7th World Rabbit Congress, Vol. A: 143-146. Valencia-Spain.

GARREAU, H.; SZENDRO, Z.S.; LARZUL, C.; ROCHAMBEAU, H. 2000. 7th World Rabbit Congress, A: 403-405.

GÓMEZ, E. A.; RAFEL, O.; RAMÓN, J.1998. ITEA. Vol. 94 A, nº 3: 250-254.

RAFEL, O.; TRAN, G.; RAMÓN, J.; BOSCH, A.; VALLS, R.; DUCROQC, V. 1988. 4th World Rabbit Congress, 2: 79-86. Budapest.

ROCHAMBEAU, H. De.1998. 7 J.Rech.Cunicole, 3-14. Lyon-France.

ROCHAMBEAU, H. de.; BOLET, G.; TUDELA, F. 1994. 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 19:257-26. Guelph.

ROCHAMBEAU, H. de.; TUDELA, F.; CHABERT, J. 1988. 4th World Rabbit Congress, Vol. V: 261-267. Budapest.

THOMPSON, R.1986. Génét. Sél. Evol. 18:475-484.

Efecto de la fase y del orden de la lactancia en el contenido en caseína de la leche de vaca

J. C. O. Lopes, A. N. V. B. V. Brito y P. M. M. Novais
Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior Agraria de Ponte de Lima
Refóios – 4990 – Ponte de Lima – Portugal

INTRODUCCIÓN

La intensificación de producciones fue, durante muchos años, el objetivo principal del sector lechero, al ejemplo de las actividades agrícolas restantes. Así, antes de la puesta en práctica de las cotas, la cantidad fue el único camino seguido para las explotaciones de la leche, en una época que el éxito de los mismos era dependiente del número de litros producido y no de su calidad. Sin embargo, en función de los requisitos y de las oscilaciones del mercado, la importancia económica del tenor en la proteína de la leche, solamente, a bien poco tiempo, comenzó a ser parte de las preocupaciones de los productores. Tal hecho podrá explicar el poco grado de conocimiento de los factores que afectan la síntesis de la proteína y su concentración en la leche, por cuanto en su correspondencia con la grasa (SUTTON, 1989, citado por LOPES, 1997).

Los aumentos deseables del contenido proteínico de la leche asumen una importancia más grande cuando entra el nivel de la caseína de la fracción, dado su relación privilegiada, por ejemplo, en la producción de quesos. Todo el esfuerzo expendido de mejorar el tenor proteínico de la leche solamente tiene sentido si estos aumentos son incorporados en la caseína y no a la fracción de las proteínas del suero.

MATERIAL Y MÉTODOS

Con el objetivo de verificar el efecto de la fase y el orden de la lactancia en el contenido proteínico de la leche, nominado en el tenor en caseína, si realizó un estudio con la recoja semanal de las muestras de la leche, seguida del análisis de la composición química de la leche: [determinación del nitrógeno total (NT), del nitrógeno no caseínico (NNC) y del nitrógeno no proteínico (NNP)]. Los animales habían sido agrupados, en función de la fase y de la orden de la lactancia: 1. animales agrupados en función del número de semanas de la lactancia (grupo1 - hasta quince semanas, grupo 2 - de desaseéis a las treinta semanas y grupo 3 - más de treinta semanas); 2. animales agrupados en función de la orden de la lactancia (1ª, 2ª, 3ª y 4ª). Las recojas semanales de la leche fueran efectuadas (ordeña de la tarde y ordeña de la mañana del día siguiente), en los grupos de siete animales (elegidos de forma al azar) y durante un período de diez semanas. De las setenta muestras recogidas de la leche, cuarenta y dos pertenecieron a diferentes animales. Para la determinación de las fracciones nitrogenadas fue seguido el método de Kjeldahl según la norma oficial de análisis. Los contenidos nitrogenados de las muestras, en función de los grupos definidos, fueran determinados. Los resultados conseguidos fueran sometidos a una análisis de variancia, teniendo como variable, las semanas de la lactancia y el número de la lactancia. Para esto, se ha utilizado lo programa informático SISTAT® para Windows®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las fracciones nitrogenadas de la leche presentaran variaciones en sus porcentajes a lo largo de la lactancia. La tabla 1 compara los tenores medios de estas fracciones en las tres fases de la lactancia.

Tabla 1. Composición del porcentaje de las fracciones nitrogenadas de la leche, en las diversas fases de la lactancia (media ± error estándar).

	Grupo	Nitrógeno Total (%)	Proteína (%)	Caseína (%)	Proteínas del Suero (%)	Nitrógeno N/ Proteínico (%)
1	hasta 15 semanas	$0,477^{a} \pm 0,02$	$2,837^{a} \pm 0,188$	$2,351^{a} \pm 0,149$	$0,486^{a} \pm 0,098$	$0,032^{a} \pm 0,004$
2	de 16 a las 30 semanas	$0,511^{a} \pm 0,02$	$3,052^{a} \pm 0,174$	$2,463^{b} \pm 0,12$	$0,589^{b} \pm 0,10$	$0,033^{a} \pm 0,002$
3	más de 30 semanas	$0,568^{b} \pm 0,05$	$3,445^{b} \pm 0,33$	$2,784^{c} \pm 0,268$	$0,661^{b} \pm 0,11$	$0,028^{b} \pm 0,00$

Los valores medianos en la misma columna con diversas letras son perceptiblemente diferentes ($P<0,05$).

Como si puede observar, el porcentaje de la caseína de la leche sufre alteraciones en el transcurso de la lactancia. Los resultados conseguidos para la caseína de la fracción habían sido sometidos a una previa análisis de la variancia, y se concluyo que existían diferencias significativas entre los grupos ($P<0,05$). Se verificó que los porcentajes medios de la proteína en los tres grupos considerados eran de 2,837, 3,052 y 3,445, respectivamente. Estos resultados van de acuerdo, regla general, a la reunión presentada en la literatura por diversos autores (ALVAREZ y CILIANO, 1990 - 3,5, SÁ y BARBOSA, 1990 - 3,0 y DIAS-DA-SILVA *et al.*, 1996 - 3.21). Relativamente a los valores medios encontrados para los porcentajes de la caseína, éstos se pueden considerar como bajos (2.351 y 2,463), con excepción del valor encontrado en el grupo 3 (2,784). Estos se basan en los resultados presentados por SÁ y BARBOSA (1990) y REBELO (1994), que habían relacionado los valores entendidos entre 2,5 y 3,6, a pesar de éstos correspondieren a medias de lactancias completas.

Los porcentajes de las diferentes fracciones nitrogenadas de la leche son modificados por el orden de la lactancia del animal. La tabla 2. muestra los promedios de las fracciones nitrogenadas en las diversas órdenes de la lactancia. Así, el porcentaje en proteína sufre un aumento inicial rápido, disminuyendo más adelante de una forma lenta pero constante, semejantes a los datos observados por NG-KWAI-HANG (1993). Sin embargo, estas variaciones no presentaran diferencias estadísticas significativas ($P>0,05$) para las órdenes de la lactancia. La variación de la caseína a lo largo de las lactancias presenta, todavía, un comportamiento similar al de la proteína pues desciende lentamente sus porcentajes desde la 2ª lactancia. A pesar de estas diferencias que no son estadísticamente significativas ($P>0,05$), los resultados obtenidos están de acuerdo con la información de NG-KWAI-HANG (1993).

Tabla 2. Composición del porcentaje de las fraccione nitrogenadas de la leche, en diversos órdenes de la lactancia (media ± error estándar).

Numero de la Lactancia	Nitrógeno Total (%)	Proteína (%)	Caseína (%)	Proteínas del Suero (%)	Nitrógeno N/ Proteínico (%)
1	0,513 ± 0,052	3,076 ± 0,335	2,525 ± 0,269	0,551 ± 0,109	0,031 ± 0,005
2	0,553 ± 0,061	3,336 ± 0,392	2,712 ± 0,315	0,624 ± 0,112	0,030 ± 0,003
3	0,527 ± 0,061	3,166 ± 0,410	2,566 ± 0,248	0,600 ± 0,184	0,031 ± 0,004
4	0,522 ± 0,040	3,142 ± 0,250	2,487 ± 0,223	0,655 ± 0,116	0,029 ± 0,004

Importa, aún, referir que el estudio para la orden de la lactancia, fue hecho solamente en animales en las 4 primeras lactancias. Así se puede considerar necesario un estudio que incluye un número mayor de animales en las lactancias subsecuentes. Las indicaciones conseguidas en este análisis nos conducen para una forma distinta de explotar este tema, en la dirección de avaluar con una mayor exactitud y precisión el efecto de las variables consideradas en el contenido en caseína. Sería conveniente que estos estudios engloben un número mayor muestras, entre las cuales se incluirán animales con números distintos de la lactancia, de diversos regímenes alimenticios y de diferentes sistemas de la explotación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CILIANO, P.C. e ALVAREZ, J.G., 1990. Influências genéticas sobre a composição do leite. *A vaca leiteira*, 26: 12-21.

DIAS-DA-SILVA, A., COLAÇO, J., OLIVEIRA, J., LOPES, J.C., COLAÇO, A. e ALVES, V., 1996. *Estudo de técnicas de produção capazes de alterar a relação proteína/gordura do leite de vaca*. FENALAC/UTAD. Vila Real, 152 pp.

LOPES, J.C.O., 1997. *Alimentação e composição do leite de vaca*. Tese de Mestrado em Prod. Animal (Nutrição e Alimentação), UTAD, Vila Real, 127 pp.

NG-KWAI-HANG, K.F., 1993. Genetic variants of milk proteins and cheese yield. *Cheese yield & factors affecting its control*, IDF Seminar, Cork, Ireland, 160-166.

REBELO, A.G., 1994. *Queijaria racional*. Ministério da Agricultura, 301 pp.

SÁ, F.V. e BARBOSA, M., 1990. O leite e os seus produtos. Nova colecção. Clássica Editora, 520 pp.

EFECTO DE GENES DE TRANSPORTE DE ÁCIDOS GRASOS *FABP3* Y *FABP4* SOBRE EL CONTENIDO DE GRASA INTRAMUSCULAR Y LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN CERDOS IBÉRICOS

Cristina Ovilo[1], Emiliano de Pedro[2], Carmen Barragán[1], Juan García Olmo[2], Carmen Castellanos[1], Estefania Alves[1], Carmen Rodriguez[1], Miguel Toro[1] y Luis Silió[1]
[1] Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Madrid
[2] Departamento de Producción Animal, ETSIAM, Córdoba

INTRODUCCIÓN

Los genes de la familia *FABP* (Fatty Acid Binding Proteins) codifican para proteinas relacionadas con el transporte intracelular de ácidos grasos desde la membrana plasmática a sus lugares de oxidación o de síntesis de triglicéridos y fosfolípidos. Estas proteínas modulan la concentración intracelular de ácidos grasos y por lo tanto intervienen en la regulación del metabolismo lipídico, por lo que sus genes se consideran candidatos para caracteres de engrasamiento y calidad de carne. Entre los ocho componentes de esta familia, los genes *A-FABP* (*FABP*4), expresado en adipocitos, y *H-FABP* (*FABP*3), expresado en músculos cardíaco y esquelético, han sido objeto de estudios de detección de polimorfismos y análisis de asociación con distintos caracteres, principalmente el porcentaje de grasa intramuscular (GIM). Estos genes son candidatos posicionales además de biológicos, ya que sus localizaciones cromosómicas, en los cromosomas 4 y 6 respectivamente, coinciden con QTLs descritos previamente que afectan al engrasamiento.

Distintos trabajos de Gerbens et al (1997, 1998, 1999, 2000) han descrito polimorfismos en estos genes y han detectado efectos sobre caracteres de engrasamiento. En estos trabajos se observan asociaciones de ambos genes con GIM en poblaciones comerciales de cerdos de raza Duroc. En cambio, en cerdos cruzados de raza Meishan la asociación solo se observa con el *FABP*3. Para el espesor de tocino dorsal estos autores describen asociación con el gen *FABP*3 únicamente en la población Duroc. Otros estudios recientes (Grindfleck et al, 2000; Ovilo et al 2000) describen resultados de asociación similares.

Las diferencias en los resultados obtenidos entre razas y en los efectos de los distintos alelos requieren el análisis de nuevas razas o poblaciones, así como de nuevos caracteres susceptibles de mostrar relación con la función biológica de estos genes. El objetivo de este trabajo ha sido comprobar el efecto de variantes genéticas de ambos genes sobre el contenido de grasa intramuscular y la composición de ácidos grasos en poblaciones de cerdo ibérico con altas edades y pesos de sacrificio.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los registros analizados proceden de cerdos castrados de la población experimental Torbiscal, con manejo extensivo (recría con alimentación restringida y ceba en montanera) y sacrificados con una edad y peso medios de 392 días y 158 Kg de peso vivo. Las canales fueron objeto de un despiece comercial y mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se determinó, en muestras

de lomo y jamón fresco, el contenido en grasa, proteína y agua, así como en muestras de grasa subcutánea el contenido de los ácidos grasos más importantes (C16: 0, palmítico; C18: 0, esteárico; C18: 1, oleico y C18: 2, linoléico) (García Olmo et al., 1998). La información utilizada en este trabajo se presenta en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Número de animales (*n*), media, desviación típica (DT) y heredabilidad (h^2) de cada carácter: peso de la canal, porcentaje de grasa intramuscular en lomo (GIML), jamón (GIMJ), media de ambos (GIMM) y composición en ácidos grasos de grasa subcutánea

Carácter	*n*	Media	DT	h^2	Carácter	*n*	Media	DT	h^2
P.Canal, kg	249	132,7	16,7	-	C16:0	249	21,2	1,2	0,37
GIML, %	196	8,1	2,4	0,46	C18:0	249	10,7	0,9	0,70
GIMJ, %	196	5,9	2,1	0,68	C18:1	249	51,4	1,9	0,42
GIMM, %	196	6,9	2,0	0,54	C18:2	249	11,0	0,7	0,28

[$] Composición de ácidos grasos expresada como porcentaje sobre total de ácidos grasos

Los polimorfismos utilizados en el análisis corresponden a un marcador de tipo microsatélite localizado en el primer intrón del gen *FABP*4 (Gerbens et al, 1998) y un marcador de tipo PCR-RFLP, localizado en el segundo intrón del gen *FABP*3 y detectado con el enzima de restricción *HaeIII* (Gerbens et al, 1997)

Para la estimación de parámetros genéticos se empleó el programa VCE 4.2. En los diversos análisis realizados se empleó un modelo multicarácter en el que se consideraron como efectos fijos la línea genética (2 niveles: C y S) y el año de sacrificio (3 niveles), como covariable el peso de la canal y como efectos aleatorios el genotipo del individuo y el residuo.

Para el análisis del *FABP*3, el genotipo del gen candidato se incluyó en el modelo lineal como un efecto fijo, estimándose el efecto aditivo del gen como la diferencia entre homocigotos y el dominante como la diferencia entre el heterocigoto respecto a la media de los homocigotos. En el caso del gen *FABP*4, los 4 alelos detectados se incluyeron como covariables de valores 0, 1 y 2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las frecuencias alélicas del polimorfismo del gen *FABP*3 en la población analizada son desequilibradas, siendo mayoritario el alelo *D* (0,82). Este resultado no coincide con las frecuencias descritas en otras razas, en las que el alelo de mayor frecuencia es el *d*. En el Cuadro 2 se presentan los efectos aditivo y dominante del gen *FABP*3. Dado que el lugar donde se expresa principalmente este gen es el músculo esquelético y según los resultados descritos previamente, cabría esperar un efecto de sus variantes genéticas sobre el contenido de grasa intramuscular en lomo y jamón. Estos efectos, aunque apreciables, no son significativos probablemente debido a que el número de registros disponibles es muy limitado.

Los tamaños medios de los alelos detectados en esta población para el microsatélite del gen *FABP*4 fueron 248, 250 252 y 254 pb siendo sus

frecuencias alélicas 0,02, 0,43, 0,10 y 0,45 respectivamente. En el Cuadro 3 se presentan los coeficientes de regresión de los 4 ácidos grasos analizados sobre los alelos del gen *FABP4*. Estos resultados se han expresado como relativos al alelo 4, que fue el que aparecía con una frecuencia más alta en la población analizada. Dada la expresión de este gen en los adipocitos cabe esperar que los caracteres sobre los que influyan sus variantes sean los relativos a la composición de los tejidos de depósito graso. Los resultados de este trabajo muestran asociación sugestiva de este gen con tres de los ácidos grasos analizados

En el análisis de los dos genes, tanto la baja informatividad de los polimorfismos analizados como el reducido número de registros disponibles, puede limitar la significación de los efectos observados y hace aconsejable ampliar estos estudios.

Cuadro 2. Efectos aditivo ($2a = DD - dd$) y dominante ($Dd - 1/2(DD + dd)$) del gen *FABP3* (*HaeIII* RFLP) sobre el contenido en grasa intramuscular de lomo (GIML), jamón (GIMJ) y la media de ambos (GIMM)

Efectos *FABP3*	GIML, %	GIMJ, %	GIMM, %
Aditivo	0,52 (0,92)	0,44 (0,81)	0,20 (0,27)
Dominante	-0,36 (0,54)	-0,27 (0,48)	-0,11 (0,43)

Cuadro 3. Coeficientes de regresión del contenido en ácidos palmítico (C16: 0), esteárico (C18: 0), oleico (C18: 1) y linoleico (C18: 2) sobre alelos del gen *FABP4*

Alelos *FABP4*	C16:0	C18:0	C18: 1	C18: 2
248	0,03 (0,39)	0,41 (0,38)	-0,28 (0,62)	0,22 (0,28)
250	-0,08 (0,11)	0,01 (0,10)	-0,02 (0,17)	0,15 (0,08)[§]
252	-0,36 (0,17)*	-0,37 (0,17)*	0,41 (0,28)	0,12 (0,13)

* $P < 0,05$; [§] $P < 0,06$

REFERENCIAS

García Olmo J. et al. (1998) *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 6: 307-312
Gerbens F. et al. (1997) *Mammalian Genome* 8: 328-332.
Gerbens F. et al. (1998) *Mammalian Genome* 9: 1022-1026.
Gerbens F. et al. (1999) *Journal of Animal Science* 77: 846-852.
Gerbens F. et al. (2000) *Journal of Animal Science* 78: 552-559.
Grindflek E. et al. (2000) Proc. International Plant and Animal Genome VIII Conference (San Diego).
Ovilo C. et al. (2000) 27 International Conference on Animal Genetis, International Society of Animal Genetics (Minnesota, USA).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto SC98-083.

ANALISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES SOBRE LOS CARACTERES DE TIPO EN REPRODUCTORAS DE RAZA ASTURIANA DE LOS VALLES

Goyache, F[1]., Gutiérrez, J.P.[2], Alvarez, I[1].

[1]CENSYRA-SERIDA, C/ Camino de los Claveles 604, Gijón (Asturias), E-mail: felixgg@princast.es; [2]Departamento de Producción Animal de la U.C.M., Facultad de Veterinaria, Madrid;

INTRODUCCION

La Asociación de Criadores de Raza Asturiana de los Valles (ASEAVA) impulsó la puesta en marcha del proyecto CICYT-FEDER 1FD97-1633, que prevé entre sus objetivos la determinación de parámetros genéticos de caracteres morfológicos, productivos y reproductivos al objeto de conocer las relaciones genéticas entre los caracteres que determinan el valor económico del animal en esa raza. El objetivo de la presente comunicación es conocer el grado de relación existente entre las variables que componen el sistema de calificación morfológica que se aplica en la raza Asturiana de los Valles.

MATERIAL Y METODOS

Se dispone de una base de datos compuesta por 5.868 registros de calificaciones morfológicas de reproductoras de genealogía conocida de raza Asturiana de los Valles de genealogía conocida obtenidos entre los años 1993 y 1998. Las calificaciones ha sido realizadas mediante el método oficial recogido en el Reglamento del Libro Genealógico de la raza Asturiana de los Valles (Cima, 1986) por expertos calificadores de ASEAVA.

El sistema de calificación utilizado comprende 10 caracteres morfológicos calificados de 5 a 10 y una calificación final (CF) obtenida mediante ponderación de los caracteres morfológicos mediante un coeficiente multiplicador (Tabla 1). Los caracteres morfológicos son: Aspecto de conjunto (As), que califica la calidad racial del animal, Desarrollo (De), que califica la talla del animal en relación con su edad y sexo, Cabeza (Ca), que califica el tamaño y armonía de la cabeza, Cuello, pecho, cruz y espalda (Cu), que califica el desarrollo y musculación del tercio anterior del cuerpo del animal, Torax y Vientre (To), que califica la profundidad corporal, Dorso y lomos (Dl), que califica el desarrollo muscular de la región y la corrección de la línea dorso-lumbar, Grupa y nacimiento de cola (Gr), que califica el desarrollo y musculación de la región, Muslos y nalgas (Mn), que califica su desarrollo muscular y convexidad, Patas y aplomos (Pa), que califica la corrección de las líneas de aplomos y la finura de la caña, y Forma y calidad de la ubre, (Ub), que califica fundamentalmente el tamaño de la ubre en el momento de la calificación.

Se ha realizado un análisis de componentes principales mediante el paquete estadístico SAS (1997) para determinar el número de variables independientes que recogen la mayor parte de la varianza fenotípica en los caracteres de tipo en la raza Asturiana de los Valles. El análisis de componentes principales se realizó a partir de la matriz de correlaciones fenotípicas entre los caracteres para asegurar que todos los caracteres se trataban como igualmente importantes dando el mismo peso a todas las variables sin importar su propia varianza. Se han seleccionado solamente los factores que presentaban autovalores ≥ 1 para asegurar que recogían mayor varianza que cualquier carácter de tipo individualmente. Los factores seleccionados se han sometido al método de rotación VARIMAX para redistribuir la varianza entre los factores y facilitar la interpretación de los mismos sin cambiar su capacidad de explicación estadística.

RESULTADOS Y DISCUSION

Todas las correlaciones fenotípicas calculadas fueron muy significativas ($p<0,0001$). Los valores obtenidos son, en general, moderados (Tabla 2). el grupo de caracteres que califican las principales regiones del tronco del cuerpo del animal (Cu, To, Dl y Gr) presentan correlaciones más altas, entre 0,40 y 0,50, probablemente por afectar como conjunto la opinión del calificador. La variable que califica los aplomos (Pa) presenta en general correlaciones bajas con los demás caracteres. As presenta una correlación moderada con Ca, seguramente por la influencia de esta última región en la apreciación del ajuste del animal al estándar racial. El desarrollo general presenta correlaciones moderadas con la mayoría de los caracteres (especialmente To y Mn) salvo con los más cercanos a la apreciación de las características raciales (De y Ca).

El análisis factorial es un procedimiento estadístico que se utiliza frecuentemente para conocer el grado de relación entre las variables que componen los diferentes sistemas de calificación morfológica en ganado bovino (Vukasinovic *et al.*, 1997; Roughsedge *et al.*, 2000). Se han seleccionado dos factores con autovalor ≥ 1 que recogen en total el 56% de la varianza fenotípica total (Tabla 3). La interpretación subjetivas de los factores se ha realizado teniendo en cuenta los autovectores de valor $>|0,50|$. El sistema de calificación aplicado en la raza Asturiana de los Valles está orientado a calificar la apariencia de los animales en función de su orientación como productores de carne manteniendo y mejorando las características raciales de la población. El Factor 1, que explica el 44% de la varianza fenotípica total, parece estar calificando animales de buen desarrollo esquelético (De, To) y desarrollo muscular lo que produce una buena CF. El factor 2 parece escoger las variables que explican en mayor medida el ajuste del animal a los requisitos del estándar racial (As y Ca). Otra explicación subjetiva del factor 2 es que parece recoger la variables que son más evidentes en las reproductoras de aptitud normal respecto de las que presentan fenotipo culón, esto es, mejores patas y aplomos, mejores ubres y, en general más correctas características raciales en especial en relación al desarrollo de la cabeza y los cuernos.

EL sistema de calificación parece ajustarse a los objetivos para los que fue diseñado en un momento de recesión y necesidad de recuperación de los censos y características raciales de la población Asturiana de los Valles. La necesidad de poner a puntos un nuevo de sistema de calificación lineal está sometido a discusión en estos momentos (Goyache et al., 1999; 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Cima, M., 1986. Estudio biotipológico de las razas bovinas autóctonas del Principado de Asturias. Gráficas Summa, Polígono de Silvota, Oviedo (Asturias), 82 pp.

Goyache, F., Villa, A., Baro, J.A. and Alonso, L. 1999. Aplicación de un sistema de calificación morfológica continua en la raza Asturiana de los Valles. *FEAGAS*, 16: 8-17.

Goyache F., del Coz, J.J., Quevedo, J.R., López, S., Alonso, J., Ranilla, J., Luces, O., Alvarez, I., Bahamonde, A., 2000. Using artificial intelligence algorithms to design and implement a morphological assessment system in beef cattle. Anim Sci, aceptado para publicación.

Roughsedge, T., Brotherston, S. and Visscher, P.M. 2000. Effect of cow families on type traits in dairy cattle. *Animal Science*, 60: 391-398.

SAS, 1997. User's Guide. SAS Institute Inc, Cary NC.

Vukasinovic, N., Moll, J., and Künzi, N., 1997. Factor analysis for evaluating relationships between herd life and type traits in Swiss Brown cattle. *Livest Prod Sci*, 49: 227-234.

Tabla 1: Descripción de los caracteres de tipo analizados en reproductoras de raza Asturiana de los Valles

	Puntuación			
Carácter	5	9	Media	s.d.
As	Suficiente	Excelente	7,43	0,93
De	Pequeña	Grande	7,28	0,74
Ca	Poco desarrollada	Bien desarrollada	7,41	0,69
Cu	Suficiente	Bien desarrollada	7,37	0,69
To	Poco profundo	Profundo	7,54	0,63
Dl	Correcta	Incorrecta	7,37	0,67
Gr	Estrecha y angulosa	Amplia y musculada	7,32	0,69
Mn	Seca	Musculada	7,45	0,66
Pa	Correcta	Incorrecta	7,45	0,68
Ub	Pequeña	Grande	6,88	0,76
CF			73,49	4,42

Tabla 2: Correlaciones fenotípicas significativas entre caracteres de tipo en reproductoras de raza Asturiana de los Valles

Carácter	As	De	Ca	Cu	To	Dl	Gr	Mn	Pa	Ub
De	0,27									
Ca	0,38	0,26								
Cu	0,31	0,35	0,35							
To	0,26	0,40	0,30	0,47						
Dl	0,28	0,33	0,31	0,46	0,46					
Gr	0,29	0,39	0,32	0,40	0,38	0,42				
Mn	0,30	0,40	0,31	0,50	0,52	0,43	0,46			
Pa	0,22	0,14	0,31	0,25	0,26	0,28	0,22	0,23		
Ub	0,21	0,24	0,24	0,10	0,13	0,13	0,18	0,18	0,21	
CF	0,59	0,65	0,55	0,63	0,66	0,67	0,71	0,74	0,43	0,43

Tabla 3: Autovalores, porcentaje de varianza acumulada y autovectores correspondientes a los dos factores seleccionados

	Factor 1	Factor 2
Autovalor	4,85	1,10
Varianza acumulada (%)	44,08	56,59
Autovectores		
As	0,32	**0,56**
De	**0,59**	0,25
Ca	0,32	**0,61**
Cu	**0,73**	0,14
To	**0,75**	0,11
Dl	**0,70**	0,17
Gr	**0,65**	0,24
Mn	**0,75**	0,18
Pa	0,19	**0,57**
Ub	-0,02	**0,76**
CF	**0,83**	0,05

EFECTOS AMBIENTALES DE INFLUENCIA SOBRE LA CALIFICACION MORFOLOGICA DE REPRODUCTORAS DE RAZA ASTURIANA DE LOS VALLES

Goyache, F[1]., Gutiérrez, J.P.[2], Alvarez, I[1].

[1]CENSYRA-SERIDA, C/ Camino de los Claveles 604, Gijón (Asturias), E-mail: felixgg@princast.es; [2]Departamento de Producción Animal de la U.C.M., Facultad de Veterinaria, Madrid;

INTRODUCCION

La Asociación de Criadores de Raza Asturiana de los Valles (ASEAVA) impulsó la puesta en marcha del proyecto CICYT-FEDER 1FD97-1633, que prevé entre sus objetivos la determinación de parámetros genéticos de caracteres morfológicos, productivos y reproductivos al objeto de conocer las relaciones genéticas entre los caracteres que determinan el valor económico del animal en esa raza. El objetivo de la presente comunicación es conocer la influencia de los efectos ambientales más importantes en el sistema de calificación morfológica que se aplica en la raza Asturiana de los Valles.

MATERIAL Y METODOS

Se han analizado 5.868 registros de calificaciones morfológicas de reproductoras de genealogía conocida de raza Asturiana de los Valles obtenidos entre los años 1993 y 1998. Para la obtención de los registros no se ha tenido en cuenta la edad o el estado de lactación de la reproductora. Las calificaciones ha sido realizadas mediante el método oficial recogido en el Reglamento del Libro Genealógico de la raza Asturiana de los Valles (Cima, 1986) por 3 expertos calificadores de ASEAVA. Se han considerado como realizadas por un cuarto calificador 429 registros obtenidos por consenso entre los tres calificadores. Las calificaciones se realizan considerando la distancia del carácter calificado respecto del carácter "ideal", en relación con la edad y el sexo del animal evaluado. Los calificadores tienen en cuenta las condiciones de explotación más o menos extensivas en que se encuentra el animal , así como su fenotipo culón o normal.

El sistema de calificación utilizado comprende 10 caracteres morfológicos calificados de 5 a 10 y una calificación final (CF) obtenida mediante ponderación de los caracteres morfológicos mediante un coeficiente multiplicador. Los caracteres morfológicos son: Aspecto de conjunto (As), Desarrollo (De), Cabeza (Ca), Cuello, pecho, cruz y espalda (Cu), Tórax y Vientre (To), Dorso y lomos (Dl), Grupa y nacimiento de cola (Gr), Muslos y nalgas (Mn), Patas y aplomos (Pa), y Forma y calidad de la ubre, (Ub). Los caracteres se describen en Goyache et al. (2001).

Los análisis estadísticos se han realizado con el paquete estadístico SAS (1997). Se ha ajustado un modelo que incluía como efectos fijos la ganadería donde se encuentra el animal (424 niveles), el año de calificación (6 niveles), el mes de calificación (12 niveles), el calificador (4 niveles), la edad del animal (4 niveles: 2, 3, 4 y 5 o más años) y el mes de lactación (5 niveles: 1, 2, 3 ,4 y 5 o más meses desde el último parto de la vaca). Cuando no se disponían de, al menos, 6 observaciones en una explotación las explotaciones se agruparon en razón de su proximidad geográfica e identidad de manejo (Gutiérrez et al., 1997).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los coeficientes de determinación obtenidos son bajos, entre 0,20 y 0,31, salvo para Ub y CF en que supera el 40% (Tabla 1). El efecto de la explotación es el que recoge la mayor parte de la varianza explicada por los modelos. La media de las CF de los animales calificados se incrementa 0,6 puntos por año desde 1993, probablemente como consecuencia de la paulatina calificación de animales de zonas donde existen animales de mayor calidad y a la mayor pericia de los calificadores, lo que explicaría la influencia significativa del año del calificación en los modelos. El mes de calificación presenta un influencia significativa para todos los caracteres excepto para Ub. No parece haber una pauta clara de influencia estacional sobre los caracteres de tipo. Sin embargo, para De y para CF las medias obtenidas en el segundo semestre del año tienden a ser menores que en el primer semestre (Figura 1). La edad de la vaca afecta significativamente a todos los caracteres excepto As que recoge el ajuste del animal al patrón racial, Cu, y los caracteres que evalúan la corrección de la línea dorso-lumbar (Dl) y de las líneas de aplomos (Pa). En cualquier caso la influencia de la edad del animal viene dada fundamentalmente por los animales adultos, mientras que los animales de 2 a 4 años presentan medias próximas y sin diferencias significativas entre ellas. El mes de lactación sólo presenta influencia significativa para Dl y Ub, lo que resulta suficiente para que CF se vea afectada significativamente para este efecto. Sorprendentemente, las calificaciones obtenidas por las reproductoras que habían parido 5 o más meses antes del momento de la calificación presentaban mejores calificaciones para Dl, Ub y CF que las hembras calificadas más cerca del parto. Este hecho puede explicarse por una sobrecorrección de las calificaciones realizadas en un momento avanzado de la lactación, de forma que no se penalice la CF de las vacas secas.

El sistema de calificación vigente en la raza Asturiana de los Valles impone a los calificadores la evaluación de los caracteres respecto de "óptimos". El sistema de calificación aplicado puede ser útil para juzgar la calidad de los animales en un momento dado (Goyache et al., 1999), pero quizás pueda no ser útil para recoger las relaciones biológicas entre caracteres que puedan ayudar a su utilización como indicadores indirectos, productivos o reproductivos, objeto de mejora (Goyache et al., 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Cima, M., 1986. Estudio biotipológico de las razas bovinas autóctonas del Principado de Asturias. Gráficas Summa, Polígono de Silvota, Oviedo (Asturias), 82 pp.

Gutiérrez, J.P., Goyache, F. Cañón, J. 1997. Estimation of direct and maternal genetic parameters for preweaning traits in the Asturiana de los Valles beef cattle breed trough animal and sire models. J. Anim. Breed. Genet., 114: 261-266.

Goyache, F., Villa, A., Baro, J.A. and Alonso, L. 1999. Aplicación de un sistema de calificación morfológica continua en la raza Asturiana de los Valles. *FEAGAS*, 16: 8-17.

Goyache F., del Coz, J.J., Quevedo, J.R., López, S., Alonso, J., Ranilla, J., Luces, O., Alvarez, I., Bahamonde, A., 2000. Using artificial intelligence algorithms to design and implement a morphological assessment system in beef cattle. Anim Sci, aceptado para publicación.

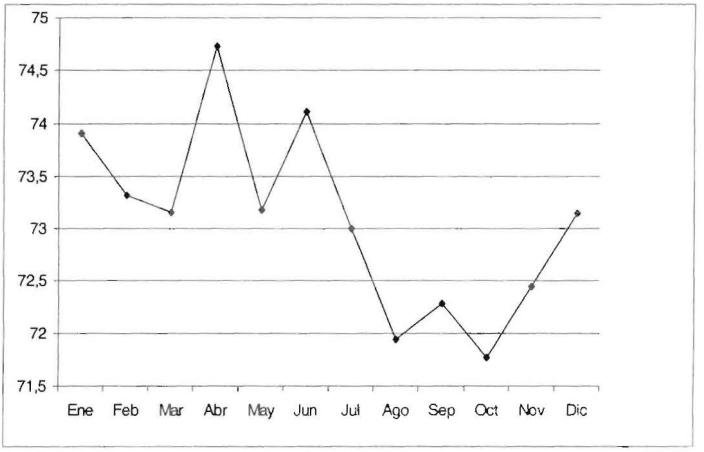
Goyache, F., Gutiérrez, J.P., Alvarez, I. 2001. Análisis de componentes principales sobre los caracteres de tipo en la raza Asturiana de los Valles. IX Jornadas de la AIDA sobre Producción Animal, Zaragoza, 25-27 de abril.

SAS, 1997. User's Guide. SAS Institute Inc, Cary NC.

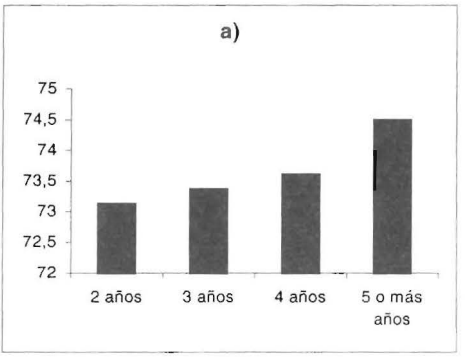
Tabla 1: Grados de libertad, cuadrados medios, significación y coeficiente de determinación del modelo ajustado para el análisis de 10 caracteres de tipo y calificación final en la raza Asturiana de los Valles

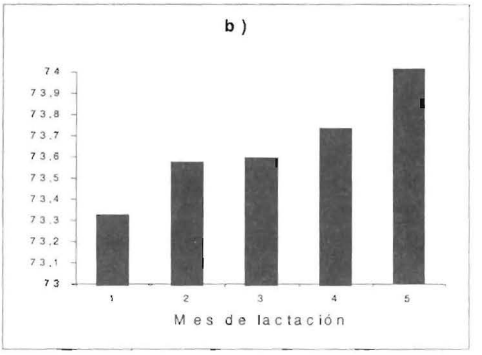
Fuente de Variación	g.l.	As	De	Ca	Cu	To	Dl	Gr	Mn	Pa	Ub	CF
Explotación	423	1,57***	1,31***	0,73***	0,95***	0,67***	0,94***	0,92***	1,02***	0,76***	0,61***	51,79***
Año	5	4,3***	3,53***	12,97***	6,64***	10,62***	9,53***	6,15***	12,44***	12,18***	31,36***	898,9
Mes	11	1,42*	1,25**	0,92**	1,06**	1,15***	0,99**	0,93**	0,85**	1,68***	0,45	48,54
Calificador	3	9,79***	4,97***	1,45**	3,36***	10,35***	1,17*	2,49**	3,9***	0,69	14,93***	257,61
Edad	3	0,05	11,62***	6,59*	0,33	2,98***	0,13	14,35***	2,29***	0,46	80,84***	587,06
Mes de lactación	4	1,05	0,66	0,17	1,34**	0,13	1,7**	0,28	0,43	0,19	2,06***	29,12
error	5.418	0,73	0,42	0,40	0,39	0,3	0,38	0,4	0,32	0,35	0,35	12,38
R^2		0,219	0,273	0,207								

Figura 1: Medias de calificación final por mes de calificación



Figuras 2a) y 2b): Calificación final por edad de la reproductora (en años) y por mes de lactación





ESTUDIOS GENETICOS EN EL CABALLO LOSINO. RESULTADOS INICIALES.

Rebeca García, M. Teresa Tejedor, M. Victoria Arruga y Luis V. Monteagudo.

Laboratorio de Citogenética y Genética Molecular. Facultad de Veterinaria. C/ Miguel Servet, 177. 50013 Zaragoza.

INTRODUCCION

El caballo de Losa o losino forma parte , junto con el pottoka o poney vasco, el asturcón y el garrano o poney asturgalaico, de la llamada agrupación de poneys cántabro-pirenaicos. Todos ellos poseen unas características comunes: su primitivo origen (fusión del caballo prehistórico con los caballos domesticados celtas), pequeña alzada (no superior a1,4m) , colores negro o castaño oscuro y carácter silvestre, indómito e impetuoso. De todos ellos, el caballo losino es el que presenta efectivos más reducidos (sólo algunas decenas de ejemplares). Su distribución tradicional se centra en las cordilleras y valles altos de la provincia de Burgos : macizos de Castro Valnera y Nela, valles de Mena y de Losa (GARCIA DORY et al., 1990).

Con vistas a la caracterización genética del caballo Losino, este equipo está trabajando en la puesta a punto de una serie de técnicas laboratoriales para la identificación de la variabilidad genética de diversos loci protéicos y microsatélites. El presente trabajo muestra los primeros resultados de esta línea de estudio.

MATERIAL Y METODOS

Hasta el momento, se dispone de muestras de sangre de un total de 39 caballos losinos, pertenecientes a una misma explotación, situada en la provincia de Burgos. A partir de la sangre completa, se procedió a la separación del plasma y los eritrocitos, así como a la extracción del ADN, de acuerdo con la técnica de MONTGOMERY y SISE(1990). Las muestras de plasma, hemolizado y ADN se conservan congeladas hasta el momento de su análisis.

En esta primera fase de estudios, se consideraron cuatro loci de proteínas plasmáticas y un locus microsatélite. La electroforesis en gel discontínuo de poliacrilamida (JUNEJA et al., 1978; GAHNE y JUNEJA, 1978) permitió el análisis simultáneo de las variantes de tres loci de proteínas plasmáticas : Grupo complemento (*GC*), Alfa-1 beta glucoproteína (*A1B*) y Transferrina (*TF*) . La variabilidad de la proteína plasmática Albúmina (*AL*) se estudió mediante electroforesis en gel de almidón (KRISTJANSSON, 1963; KRISHNAMURTY et al., 1974).

Para el análisis de los microsatélites equinos (VHL20), la amplificación por PCR se realizó de acuerdo con las recomendaciones de los autores de las técnicas originales (VAN HAERINGEN et al., 1994). La identificación de los alelos se realizó mediante electroforesis en geles desnaturalizantes de poliacrilamida (8%), que contenían urea (8M). La visualización de los alelos se realizó mediante tinción con $AgNO_3$ (HEUSKESHOVEN y DERNICK,1985; BUDOWLE,1991).

Los estudios poblacionales se realizaron mediante el programa GENETIX (BELKHIR et al., 1996-1998), que permite, entre otras operaciones, el cálculo de frecuencias alélicas y la estimación de los índices de fijación F_{IS} , F_{IT} y F_{ST} de Wright (WRIGHT, 1965), así como el estudio de la signficación estadística de estos últimos.

RESULTADOS Y DISCUSION

Hasta el momento actual, 27 de las muestra sindividuales disponibles han sido ya analizadas respecto a los cuatro loci considerados de proteínas plasmáticas. La tabla 1 muestra para cada uno de estos loci los alelos detectados, así como las frecuencias alélicas y sus correspondientes errores estándar. Los loci *GC*, *A1B* y *TF* mostraron valores de F_{IS} no significativamente diferentes de 0,por lo que puede admitirse la existencia de equilibrio genético de Hardy-Weimberg. Sin embargo, en el caso de *AL* se apreció un exceso significativo de heterocigotos (F_{IS}=-0,466, $p<0,05$). A fin de explicar esta circunstancia, se está procediendo al estudio de lo sdatos genealógicos disponibles en la explotación.

Considerando conjuntamente los cuatro loci de proteínas plasmáticas analizados, se estimó un valor global de F_{IS}=-0,132, que no resultó significativamente diferente de 0 ($p<0,05$). Así pues, no se han encontrado hasta el momento pruebas de una consanguinidad apreciable en la explotación considerada.

En el momento actual se encuentran en curso los análisis poblacionales referentes al microsatélite VHL20 considerando los 39 individuos disponibles. Por otro lado, se tiene previsto ampliar el número de loci proteicos y microsatélites considerados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BELKHIR, K., BORSA, P., GOUDET, J., CHIKHI, L. & BONHOMME,F. (1996-1998) GENETIX, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire du Génome et Populations, CNRS UPR 9060, Université de Montpellier II ,Montpellier(France).<http://www.univ_montp2.fr/~genetix.htm>

BUDOWLE , B.(1991) AMPFLPS-Genetic markers for forensisc identification. *Crime Laboratory Digest* **18**, 134-136.

GAHNE, B. & JUNEJA, R.K. (1978). Polymorphic post-albumin of cattle and horse plasma identified as vitamin D binding protein (Gc protein). *Anim. Blood Grps. biochem. Genet.*, **9**, 37-40.

GARCIA DORY, M.A., MARTINEZ VICENTE, S. & OROZCO PIÑAN,F. (1990). *Guía de campo de las razas autóctonas de España*. Alianza Editorial, S.A, Madrid, 170-172.

HEUSKESHOVEN, J. & DERNICK,R. (1985)Simplied method for silver staining of proteins in polyacrilamide gels and the mechanism of silver staining *Electroforesis* **6**, 103-112.

JUNEJA, R.K.; GAHNE, B. & SANDBERG, K. (1978). Geneticpolymorphism of the vitamin D binding protein and another post-albuminin horse serum. *Anim.Blood Grps. biochem. Genet.*, **9**,29-36.

KRISHNAMURTHY,U.S.; BHUVANAKUMAR, C.K. & RATHNASABAPATHY,V. (1974). Anew albumin type in Indian sheep. *Anim. Blood Grps. biochem.Genet.*, **5**, 125.

KRISTJANSSON, F.K. (1963). Genetic control of two prealbumins in pigs. *Genetics.* **48**, 1059-1063.

MONTGOMERY G.W., SISE J.A., 1990. Extraction of DNA from Sheep white blood cells. *NZ. J. Agr. Res.*, **33**, 437-443.

VAN HAERINGEN, H.; BOWLING, A.T.; STOTT, M.L.; LENSTRA, J.A. & ZAAGSTRA, K.A.(1994). A highly polymorphic horse microsatellite locus :VHL20. *Anim. Genet.* **25**, 207.

WRIGHT, S. (1965). The interpretation of populationstructure by F-statistics with special regard to systems of mating.*Evolution*, **19**, 395-420

TABLA 1: Frecuencias alélicas con su error estándar (e.e.) para los cuatro loci de proteínas plasmáticas consideradas.

Locus	Alelo	Frecuencia ± e.e.
AL	*AL*F*	0,611 ± 0,066
	*AL*S*	0,389 ± 0,066
GC	*GC*F*	0,278 ± 0,061
	*GC*S*	0,722 ± 0,061
A1B	*A1B *K*	0,889 ± 0,042
	*A1B *S*	0,111 ± 0,042
TF	*TF*D*	0,111 ± 0,043
	*TF*E*	0,093 ± 0,012
	*TF*F1*	0,018 ± 0,018
	*TF*F2*	0,686 ± 0,063
	*TF*F3*	0,018 ± 0,018
	*TF*O*	0,074 ± 0,036

PARÁMETROS GENÉTICOS DE CARACTERES DE CALIDAD DE CARNE Y GRASA EN CERDOS IBÉRICOS

Carmen Rodriguez[1], Emiliano de Pedro[2], Ana Garrido[2], Nieves Núñez[2], Jaime Rodrigáñez[1], Almudena Fernández[1] y Luis Silió[1]
[1] Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Madrid
[2] Departamento de Producción Animal, ETSIAM, Córdoba

INTRODUCCIÓN

La producción de cerdos de tipo ibérico está orientada mayoritariamente a la obtención de materia prima para la elaboración de productos curados de alta calidad. La industria transformadora demanda animales sacrificados a elevado peso y de calidad de carne y grasa idónea para el largo proceso de curación de paletas y jamones, siendo por ello especialmente apreciados los cerdos cebados en el sistema de montanera con aprovechamiento de los recursos pastables de la dehesa. En la carne se valora positivamente su infiltración grasa y, en cuanto a la composición deseable de ésta, un alto contenido de acidos grasos monoinsaturados que se asocia a una superior fluidez y capacidad de formación de compuestos aromáticos. Un excesivo contenido en linoleico resulta inconveniente para la curación de productos ibéricos, ya que interfiere en la migración de agua y alarga la desecación de las piezas (López Bote, 1998).

La mejora genética de esta población debe considerar por ello, junto a los principales caracteres productivos, los citados de calidad de carne y grasa. En algunos programas de mejora de cerdo intensivo existe un creciente énfasis por la inclusión en el objetivo de selección de ciertos caracteres de calidad tecnológica o sensorial, lo que ha generado considerable información sobre sus parámetros genéticos (Sellier, 1998), aunque esta producción demanda un tipo de grasa firme ya que la blanda grasa insaturada plantea inconvenientes a la elaboración de carne empaquetada o productos cocidos. Lo singular de la producción de cerdos ibéricos requiere por ello la estimación de heredabilidades y correlaciones para el conjunto de caracteres de interés. Ello constituye el objetivo del presente trabajo.

Cuadro 1. Descripción de los registros analizados

	N	Media	DT		*N*	Media	DT
				Calidad de carne			
Calidad de canal				Grasa, %	835	9,8	2,6
Peso canal, kg	980	129,3	15,6	*Calidad de grasa* [§]			
Peso jamones, kg	980	20,3	1,9	C16:0	968	21,9	1,3
Peso paletas, kg	980	13,7	1,3	C18:0	968	10,1	1,2
Peso lomos, kg	947	3,2	0,5	C18:1	968	51,6	2,2
				C18:2	968	10,5	0,9

[§] Composición de acidos grasos expresada como porcentaje sobre total de acidos grasos

MATERIAL Y MÉTODOS

Los registros analizados proceden de cerdos castrados controlados por AECERIBER durante las campañas 1998-99 y 1999-2000, dentro del esquema de valoración genética (Rodríguez et al., 2000), basado en animales descendientes de reproductores inscritos en el Libro Genealógico, identificados electrónicamente, con manejo extensivo (recría con alimentación restringida y ceba en montanera) y sacrificados con una edad y peso medios de 494 dias y 159 kg de peso vivo. Las canales fueron objeto de un despiece comercial y mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se determinó en muestras de lomo fresco el contenido en grasa, proteína y agua, así como en muestras de grasa subcutánea el contenido de los acidos grasos más importantes (C16:0, palmítico; C18:0, esteárico; C18:1, oleico y C18:2, linoleico) (García Olmo et al., 1998). El número de animales controlados y la media y desviación típica de los caracteres utilizados en este trabajo se presentan en el Cuadro 1.

Para la estimación de parámetros genéticos se empleó el programa VCE 4.2 de E. Groeneveld. En los diversos análisis realizados se empleó un modelo multicarácter en el que se consideraron como efectos fijos el tipo genético o variedad (3 niveles: Retinto, Entrepelado y Lampiño) y la tanda de sacrificio (13 niveles), como covariable el peso de la canal y como efectos aleatorios el genotipo del individuo y el residuo.

Cuadro 2. Heredabilidades y correlaciones genéticas (sobre diagonal) para composición en ácidos grasos de grasa subcutánea de cerdos ibéricos

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2
C16:0	0,38 (0,05)	0,93 (0,04)	-0,96 (0,02)	-0,76 (0,08)
C18:0		0,36 (0,05)	-0,98 (0,03)	-0,59 (0,11)
C18:1			0,28 (0,05)	0,61 (0,12)
C18:2				0,28 (0,05)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estimas de parámetros genéticos (y sus errores típicos) correspondientes al perfil de ácidos grasos presentes en la grasa subcutánea se resumen en el Cuadro 2. Los valores de la heredabilidad confirman que es posible modificar por selección la composición química de la grasa en el sentido deseable (incremento de oleico), siendo negativa la correlación genética entre saturados e insaturados y especialmente elevada para el ácido oleico. La correlación genética entre el contenido de acidos grasos saturados (palmítico y esteárico) así como entre el contenido de insaturados (oleico y linoleico) es positiva, lo que hace aconsejable que el objetivo de selección contemple restricciones para este segundo carácter.

Los parámetros genéticos relativos al conjunto de 6 caracteres que pudieran figurar en un nuevo objetivo de selección (pesos de jamones, paletas y lomos; % de grasa intramuscular y contenido en oleico y linoleico) fueron estimados en un segundo análisis cuyos resultados se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Heredabilidades y correlaciones genéticas (bajo diagonal) para caracteres de calidad de canal (peso de jamones, paletas y lomos), calidad de carne (% de grasa intramuscular, % GIM) y calidad de grasa (contenido en oleico, C18:1 y linoleico, C18:2) en cerdos ibéricos

	Jamones	Paletas	Lomos	% GIM	C18:1	C18:2
Jamones	0,36	0,72	0,62	-0,19	0,15	0,12
	(0,05)	(0,05)	(0,09)	(0,12)	(0,09)	(0,08)
Paletas		0,45	0,53	0,12	0,32	0,31
		(0,05)	(0,09)	(0,13)	(0,09)	(0,08)
Lomos			0,20	-0,18	-0,02	0,16
			(0,04)	(0,14)	(0,10)	(0,11)
% GIM				0,10	-0,18	-0,15
				(0,03)	(0,14)	(0,17)
C18:1					0,27	0,61
					(0,05)	(0,09)
C18:2						0,28
						(0,04)

Estos resultados permiten afirmar que la selección para incremento del rendimiento en piezas nobles no plantea a medio plazo riesgos importantes de deterioro de la calidad de carne y grasa en cerdos ibéricos. La correlación genética entre el peso de estas piezas (ajustado para el peso de la canal) y los parámetros de calidad considerados presenta valores bajos, en su mayoría no significativamente distintos de cero. La única excepción corresponde a la correlación genética positiva del peso de las paletas con el contenido de oleico y linoleico, que plantea de nuevo la necesidad de que que el objetivo de selección contemple restricciones para este segundo carácter. El contenido de grasa intramuscular presenta una inesperada baja heredabilidad, y su correlación genética con el resto de caracteres no es significativa. La selección a favor del aumento de grasa intramuscular y del contenido en oleico es teóricamente viable aunque su implementación a coste razonable requiere una discusión cuidadosa.

REFERENCIAS

García Olmo J., De Pedro E. y Garrido A. (1998) *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 6: 307-312

López- Bote C. (1998) *Meat Science* 49 Supplement 1: S17-S27

Rodríguez C., Silió L., Rodrigáñez J., Diéguez E., Alvarez F., Cañuelo P., Ureta P. (2000) *Sólo Ibérico* 5: 29-36

Sellier P. (1998) En *The Genetics of the Pig* (M Rothschild y A. Ruvinsky, Eds.), pp. 463-510, CAB International

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado en el marco del proyecto 1FD97-1252-C02-01 gracias a la colaboración de AECERIBER

CARACTERIZACIÓN GENÉTICA DE LAS POBLACIONES DE TRUCHA COMUN AUTÓCTONA (Salmo trutta) PRESENTES EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ARAGÓN

Monclús C.[1], Larrayad R.[1,2],Villalta M. [1,3],Blasco J.M.[1], Cortey M.[4] y García-Marín J.L.[4]

[1] Unidad de Sanidad Animal, S.I.A./ D.G.A. (Zaragoza)

[2] Dirección General del Medio Natural, D.G.A. (Zaragoza)

[3] Servicios Veterinarios Oficiales de Salud Pública, D.G.A. (Albarracín-Teruel)

[4] Laboratorio de Ictiología Genética de la Universidad de Girona

INTRODUCCIÓN

La trucha común es una especie originaria de Eurasia y Norte de África que presenta una gran plasticidad fenotípica y distintas variantes ecológicas, lo que ha llevado a una considerable confusión taxonómica (Bernatchez, 2001). En Aragón, se comenzaron los estudios genéticos en 1997 con ejemplares de ríos pertenecientes a la Confederación Hidrográfica del Ebro y del Júcar, utilizando como herramienta molecular la zona de control (D-loop) y genes adyacentes del ADN mitocondrial (mtDNA) mediante tecnología PCR-RFLPs (Villalta et al., 1998; Larrayad et al., 1999). Más recientemente, se caracterizaron los RFLPs resultantes para establecer las distancias genéticas entre las diferentes poblaciones autóctonas "mediterráneas" identificadas, así como su relación genética con las truchas repobladas de origen "atlántico". A su vez, y para confirmar los resultados obtenidos con esta técnica, también se estudió la secuencia nucleotídica del D-loop de individuos representativos de cada una de las poblaciones de trucha anteriormente identificadas. Del análisis conjunto de ambas técnicas se obtuvieron resultados coincidentes, destacando que en los ríos y afluentes aragoneses podemos encontrar dos razas de trucha común autóctona "mediterránea": ME1 y ME2.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron un total de 1401 ejemplares de ríos y afluentes de nuestra Comunidad Autónoma, así como de las piscifactorías oficiales. A su vez, se incluyeron truchas procedentes de otras cuencas como controles externos. El estudio se llevó a cabo a partir de ADN de aleta adiposa donde se amplificó un fragmento de 2.75 Kb que comprende la zona de control o D-loop y genes adyacentes del mtDNA para, posteriormente, caracterizarse con enzimas de restricción (Villalta et al., 1998). Las distancias genéticas calculadas a partir de los RFLPs y sus representaciones gráficas se obtuvieron con el software Lane Manager y ADA de TDI. Asimismo, también se secuenció la región de control o D-loop (1 Kb) de 59 individuos representativos de las diferentes poblaciones identificadas. La secuenciación automática se llevó a cabo en un ABI PRISM-310 Genetic Analyzer, alineando las secuencias con el software Seq.Ed.v.1.3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para el estudio genético de las poblaciones de trucha implicadas se han encontrado 14 enzimas de restricción de utilidad filogenética que han resultado en 43 haplotipos mitocondriales diferentes (RFLPs) -designados desde la letra A a la D-. De su análisis, se obtuvieron 108 fragmentos de restricción que han

servido para la obtención de una matriz de distancias genéticas utilizando como criterio la presencia o ausencia del fragmento (Tablas 1 y 2).

Tabla 1. Genotipos mitocondriales obtenidos por RFLPs donde se indica el origen macrogeográfico. ME: mediterráneo; AT: atlántico y DU: cuenca del Duero. ME1: ríos Huecha, Alto Ara, Lubierre, Pitarque y Pancrudo. ME 2: ríos Mesa, Guadalope y Acirón. DU 1: ríos Duero y Pedroso. AT 1: rías Camariñas y Lires. AT 2: ría Camariñas. AT 3: Piscifactoría de Planduviar (Huesca). AT 4: Piscifactoría de Planduviar (Huesca) y río Rudrón. *S. salar*: salmón atlántico.

mtDNA genotipo	Hpa II	Mbo I	Alu I	Taq I	Dde I	Fok I	Hinf I	Alw 26 I	Hha I	Ita I	Mae I	Mae III	Nci I	Nla IV
ME 1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
ME 2	A	B	B	B	A	A	A	A	A	A	C	A	A	A
DU 1	B	A	C	A	A	A	A	B	C	B	B	A	B	A
AT 1	A	B	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B
AT 2	A	C	B	B	A	B	B	A	B	B	B	A	A	B
AT 3	A	B	B	B	B	B	B	A	A	B	B	A	A	B
AT 4	B	B	B	B	A	B	B	A	A	B	B	A	B	B
S. salar	C	C	D	C	C	C	C	C	A	C	D	B	C	C

De este modo, se han identificado 7 genotipos mitocondriales diferentes que han sido codificados con las sucesivas letras de cada haplotipo. Más en concreto, se han detectado 2 genotipos "mediterráneos" –denominados ME1 y ME2-, que presentan una distancia genética media entre ellos de 0.73%. Asimismo, también se han identificado 2 genotipos alóctonos "atlánticos" –AT3 y AT4- presentes en nuestros ríos y piscifactorías encargadas de los programas de repoblación. A su vez, y debido a la inclusión de ejemplares de otras cuencas hidrográficas como control externo –Duero y Norte-, se ha caracterizado un genotipo "autóctono" endémico de la cuenca del Duero (DU 1) que presenta una distancia genética media de 1.6% con nuestros genotipos autóctonos "mediterráneos" (ME1 y ME2) y de 2.4% con los genotipos autóctonos de origen "atlántico" identificados en la cornisa cantábrica (AT1 y AT2). Como conclusión, la representación gráfica de estas distancias genéticas revela la presencia de tres agrupamientos filogenéticos principales: 1) un ensamblaje "mediterráneo" (ME 1 y ME 2) que incluiría nuestra trucha común autóctona "aragonesa", 2) otro de origen "atlántico" constituido por genotipos autóctonos de las cuencas del Norte (AT 1 y AT 2), así como por genotipos "alóctonos" (AT 3 y AT 4) presentes en nuestras piscifactorías oficiales y ríos sometidos a repoblación y, finalmente, 3) un linaje "autóctono" exclusivo para la cuenca del Duero (DU 1) que posiciona entre los dos agrupamientos anteriores (no se muestran los dendogramas).

Tabla 2. Distancias genéticas (% diferenciación nucleotídica) entre los distintos genotipos mitocondriales identificados mediante PCR-RFLPs a partir de los programas Lane Manager y ADA de TDI (Nei and Li, 1979).

	ME 1	ME 2	DU1	AT1	AT 2	AT 3	AT 4
ME 1		0.7327	1.5237	1.9246	2.1376	1.6846	1.8960
ME 2	0.7327		1.6666	1.3144	1.4183	1.0821	1.4179
DU 1	1.5237	1.6666		2.3261	2.5428	1.9804	1.4188
AT 1	1.9246	1.3144	2.3261		0.3560	0.2218	0.8048
AT 2	2.1376	1.4183	2.5428	0.3560		0.5769	0.9053
AT 3	1.6846	1.0821	1.9804	0.2218	0.5769		0.5755
AT 4	1.8960	1.4179	1.4188	0.8048	0.9053	0.5755	

Por último, para comprobar la fidelidad de nuestros resultados obtenidos por RFLPs se procedió a la secuenciación automática del D-loop. Del análisis

de las secuencias nucleotídicas obtenidas de 59 individuos representativos de las distintas poblaciones anteriormente caracterizadas por RFLPs, se duplicó el número de genotipos mitocondriales identificados (14 secuencias diferentes) obteniéndose, en consecuencia, una mayor sensibilidad con esta técnica que permite detectar mutaciones en nucleótidos que escaparon del alcance de las 14 endonucleasas de restricción utilizadas (Tabla 3). En particular, en las truchas "mediterráneas" –ME 1 y ME 2- se han encontrado 3 genotipos diferentes para cada linaje (a, b y c, respectivamente), estando algunos de ellos circunscritos en ríos aragoneses específicos. Por tanto, resulta evidente el interés de este método analítico para la caracterización "microgeográfica" de nuestras poblaciones de trucha. De la misma manera, se debe indicar que las distancias genéticas derivadas de este estudio coinciden plenamente con las obtenidas a partir del análisis previo por RFLPs, así como la distribución de agrupamientos filogenéticos (datos no presentados). En definitiva, este estudio demuestra la idoneidad de ambas técnicas –RFLPs y secuenciación- y la del marcador molecular utilizado –mtDNA- para la caracterización genética de esta especie.

Tabla 3. Genotipos mitocondriales detectados por secuenciación completa del D-loop donde se indican las posiciones variables. (1): indica la nomenclatura asignada a los genotipos en el Laborario de Ictiología Genética del Dr. García-Marín

mtDNA genotipos	(1)	POSICIONES VARIABLES del D-loop																			
				1	1	1	2	3	3	4	5	7	8	8	8	8	9	9	9	9	9
		2	4	1	4	9	6	8	8	0	2	0	1	1	7	9	0	0	3	5	7	8
		4	9	1	5	5	1	8	9	2	9	9	2	6	6	9	2	6	5	9	5	9
ME 1 (a)	lb. 12	C					C	T	C	C	T					G						
ME 1 (b)	lb. 85	C					C	T		C	T					G						
ME 1 (c)	lb. 87	C	T				C	T	C	C	T					G						
ME 2 (a)	lb. 24	C			A	C		T	C	C	T				C	G				C		
ME 2 (b)	lb. 67	C				C		T	C	C	T				C	G				C		
ME 2 (c)	lb. 86	C				C		T	C	C	T				C	G				C	G	
DU 1 (a)	lb. 2										T	T		C		G	G					
DU 1 (b)	lb. 90											T	G	C		G	G					
AT 1 (a)	lb. 7			C	A														A			C
AT 1 (b)	lb. 88			C	A													T				C
AT 1 (c)	lb. 89			C	A												G		A			C
AT 3 (a)	lb. 14										T								A			
AT 3 (b)	lb. 30										T							A	A			
AT 4 (a)	lb. 15										T											

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernatchez, 2001, Evolution.

Villalta et al., 1998, Cahiers Options Méditerranéennes, 34:247-264.

Larrayad et al., 1999, ITEA 1999, pag. 303-305.

Nei and Li, 1979, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5269-5273.

RESULTADOS PRELIMINARES SOBRE LA INFLUENCIA DE EFECTOS AMBIENTALES EN LA LONGEVIDAD DEL GANADO FRISÓN ESPAÑOL USANDO TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.

Chirinos, Z., Hernández, D., Carabaño, M.J.
Departamento de Mejora Genética y Biotecnología, INIA.Madrid

INTRODUCCIÓN

Por décadas, la selección en el ganado vacuno de leche se ha llevado casi exclusivamente con caracteres de producción. Recientemente los caracteres secundarios o no productivos llamados también caracteres funcionales están recibiendo una gran atención a causa de su alto impacto en los costos de producción. La importancia económica de la longevidad en ganadería de leche es un aspecto que está muy bien documentado (Essl, 1998) y ha sido confirmada con los resultados de modelos bioeconómicos cuyas estimaciones están en un rango de 25-70% del valor económico de la producción de leche (Allaire y Gibbson, 1992; Weigel y col., 1995).

La longevidad es un carácter cuya selección plantea algunos problemas como son el largo tiempo que se tarda en tener la información completa de la vaca y la baja heredabilidad del carácter, lo que supone un alargado intervalo entre generaciones y un alto porcentaje de vacas que están aún vivas al momento de la evaluación genética. Las técnicas de análisis de supervivencia parecen ser las más apropiadas para analizar longevidad, ya que permiten utilizar toda la información disponible de animales que poseen registros con información completa y de aquellos que aun están en producción al momento de finalizar la evaluación (datos censurados), permitiendo una modelización más correcta de factores mediante el uso de covariables que dependen del tiempo (Ducrocq, 1994; Vukasinovic y col.,1997; Ducrocq y Sölkner,1998; Durr y col., 1999).

El objetivo de este estudio fue realizar estudios preliminares relacionados con el uso de las técnicas de análisis de supervivencia para determinar la influencia de algunos factores ambientales sobre la longevidad y obtener información previa para monitorizar la aplicación futura de este tipo de análisis a una base de datos más amplia y bajo modelos más complejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado datos provenientes del control lechero oficial aportados por CONAFE. Con objeto de limitar el tamaño de la muestra a utilizar para hacerla computacionalmente asequible se eligió una única comunidad autónoma, Navarra, por contar con datos de una serie más prolongada de años. La medida de longevidad (LON) para cada animal fue definida como el número de días entre el primer parto y el último control lechero registrado. Se consideró que las vacas tenían datos completos si la diferencia entre la fecha de último control para esa vaca y la fecha del último control en su rebaño era superior a 7 meses. En caso contrario el dato de LON se consideró como censurado. El fichero original de datos fue depurado, eliminándose vacas sin información de primer parto o fuera del intervalo 540 – 1220 días, con intervalo entre partos menor a 305 días, y con producciones fuera de los rangos 3000 - 20000 kg para producción de leche, 1.5% - 9.0% para porcentaje de grasa y 1.0%-7% para porcentaje de proteína. Al final de la depuración quedaron 15.633 vacas repartidas en 264 rebaños con fecha de primer parto entre 1985 y 1998.

El análisis de supervivencia fue realizado con el Survival Kit V3.0 de Ducrocq y Sölkner (1998), a través del modelo semiparamétrico de Cox, siendo éste:

$$\lambda(t)= \lambda_o (t)*\exp\{R_i+AE(\tau)+RAE(\tau)+EP_j+LS(\tau)\}$$

donde:

$\lambda(t)$= función de riesgo (probabilidad de ser eliminada t días después del parto, dado que la vaca está en producción hasta ese momento).

λo (t)= función de riesgo base de una vaca, asociado al proceso de envejecimiento.

Ri= Efecto independiente del tiempo del Rebaño
AE(τ)= Efecto dependiente del tiempo de Año x época de parto
RAE(τ)=Efecto dependiente del tiempo de Rebaño-año-época de parto
EP_j = Efecto independiente del tiempo de edad al primer parto (9 clases)
LS(τ)= Efecto dependiente del tiempo del número de lactación (1,2,3,4,5,6, ≥7) por el estado de la lactación, asumido como una pieza constante con cambios a 0, 30, 60, 90, 180, 240 y 300 días de cada lactación.

Mediante el uso del Survival Kit (Ducrocq y Sölkner, 1998) se obtuvo información sobre las curvas que describen el riesgo de eliminación en la población analizada y la adecuación del modelo anterior.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 15.633 vacas evaluadas, 7.608 fueron censuradas (48.7%) con una media de LON de 863 días y 8025 vacas contaban con datos completos y una media de LON de 1103 días.

La Figura 1 muestra la función de supervivencia base para todos los animales evaluados y representa la proporción de vacas que podrían estar aún vivas t días después del primer parto si el desecho no estuviese afectado por los efectos incluidos en el modelo. De acuerdo con esta Figura, la proporción de vacas aún vivas decrece muy rápidamente con el tiempo, haciéndose prácticamente nula alrededor de los 700 días. Un declive menos rápido se ha observado en otras poblaciones lecheras (Vukasinovic y col., 1997).

En cuanto a la significación de los efectos incluidos en el modelo, en la Tabla 1 se muestran los resultados del test de razón de verosimilitud para modelos sucesivamente más complejos que incluyen los efectos de forma secuencial. Todos los efectos incluidos en el modelo fueron significativos ($P < 0.0001$) de acuerdo con el test χ^2. Sin embargo, la inclusión de los efectos R y EP supuso mejoras pequeñas, tanto en la verosimilitud como en el estadístico R^2 de Maddala que suministra el programa.

Tabla 1. Resultados del test de razón de verosimilitud

Covariable Z	G.L. Total	-2 log. Verosimilitud incluyendo Z	R^2 MADDALA	Prob.
No covariable	0	136,561.1		
R	242	135,982.5	0.04	0.0000
AE	290	133,483.9	0.18	0.0000
RAE	2835	128,315.8	0.41	0.0000
EP	2843	128,080.7	0.42	0.0000
LS	2890	120,898.4	0.63	0.0000

R=Rebaño; AE=Año*Época de parto; RAE=Rebaño*Año*Epoca; EP=Edad al 1er parto
LS=Lactación*Estado de la lactación.; G.L.=Grados de libertad

Las soluciones de los efectos incluidos en el modelo se expresan como tasa de desecho relativa (TDR) definida 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. En la Figura 2 se presenta el efecto EP. La TDR aumenta en alrededor de un 10% hasta los 26 meses de EP y posteriormente de forma muy ligera para animales con EP más tardías (superiores a los 28 meses). En otras poblaciones se ha encontrado que el riesgo relativo aumenta de forma monótona con la EP (Ducrocq, 1999, Durr y col., 1999, Schneider y Miglior, 1999, Strandberg y Roxtröm, 2000).

La Figura 3 muestra las diferentes estimaciones de la TDR de acuerdo al número y el estado de la lactación. Existe una tendencia de incrementar la TDR desde el inicio hasta el final de la lactación, alcanzando el máximo a los 300 días, aunque con marcada diferencia de aproximadamente tres veces más entre las vacas de primera lactación y el resto. Dentro de cada lactación la TDR es muy baja durante los primeros 180 días. Solamente en las

vacas de primera lactación se observa un marcado riesgo de desecho a los primeros 60 días, indicando una selección intensiva en novillas al inicio de su producción. Similares tendencias fueron señaladas por Vukasinovic (1999) y Schneider y Miglior, (1999).

En la Figura 4 se representa un test gráfico sobre la hipótesis nula de aplicabilidad del modelo de riesgos proporcionales (el riesgo de desecho de dos animales es proporcional dentro de un periodo en el que actúan los mismos valores de las covariables) utilizando residuos generalizados. Éstos se obtienen como la suma de riesgos a los que se expone un individuo hasta un momento t en su vida productiva, según las covariables introducidas en la función de riesgo. Bajo la hipótesis nula, los residuos siguen una distribución exponencial con parámetro igual a la unidad, lo que parece ser el caso en nuestro análisis de acuerdo con los resultados de la Figura 4, aceptándose la hipótesis de que el modelo de riesgos proporcionales es aplicable.

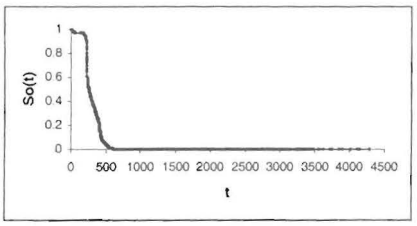


Figura 1. Función de supervivencia base

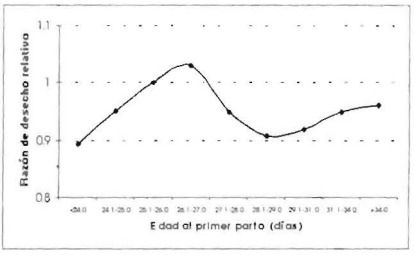


Figura 2. Efecto de la edad al primer parto

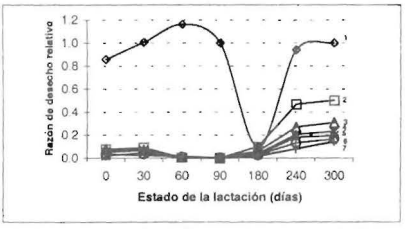


Figura 3. Efecto de número-estado de la lactación

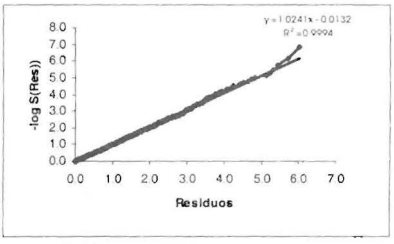


Figura 4. Test de residuos generalizados

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allaire, F.R., y Gibson, J. P. 1992. J. Dairy Sci. 75: 1349-1356.

Ducrocq. V.P. 1994. J. Dairy Sci. 77:855-866.

Ducrocq, V.P. 1999. International Workshop on EU Concerted Action for Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle: Longevity. Jouy-en-Josas, France. Interbulll Bulletin 21:60-67.

Ducrocq, V. y J. Sölkner. 1998. Proc. 6 th WCGALP. Armidale, Australia. 27:447-448.

Durr, J. W., Monardes, R.I., Cue, R.I., y Philpot, J.C. 1999. J. Dairy. Sci. 82: 2503-2513.

Essl, A. 1998. Livest. Prod. Sci. 57, 79-89.

Renkema, J.A., y Stelwagen, J. 1979. Livest. Prod. Sci. 6:15-27.

Schneider, M Del P., y Miglior, F. 1999. 50th Annual Meeting of the EAAP, Zurich, Switzerland, 5:11.

Strandberg, E. y Roxtröm, A. 2000. Anim. Sci. 70: 383-389.

Vukasinovic, N. 1999. Proc. International Workshop on EU Concerted Action for Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle: Longevity. Jouy-en-Josas, France. Interbulll Bulletin 21: 3-10.

Vukasinovic, N., Moll,J. y Künzi,N. 1997. J. Dairy Sci. 80: 2572-2579.

Weigel, K.A., Cassell, B.G., Hoeschele, I y Pearson, R.E. 1995. J. Dairy Sci. 78:639-647.

DETECCIÓN DE QTLs EN UN CRUCE F_2 DE CERDO IBERICO X LANDRACE: COMPOSICION DE ACIDOS GRASOS Y SUS INDICES METABOLICOS EN EL TEJIDO ADIPOSO SUBCUTANEO DORSAL.

A. Clop[1], C. Ovilo[2], M. Pérez-Enciso[3], A. Cercós[1], A. Tomàs[1], A. Fernandez[2], A. Coll[1], J. M. Folch[1], C. Barragán[2], I. Díaz[4], M.A. Oliver[4], L. Varona[3], L. Silió[2], A. Sánchez[1], J. L. Noguera[3]. [1]Unitat de Genètica i Millora Animal, Fac. de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona.08193 Bellaterra, Barcelona. [2]Area de Mejora Genética Animal y Biotecnología, CIT-INIA, 28040 Madrid. [3]Area de Producció Animal, Centre UdL-IRTA,c25198 Lleida. [4] IRTA Centre de Tecnologia de la Carn, 17121 Monells, Girona.

INTRODUCCION

La composición en ácidos grasos de la dieta influye significativamente en el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en la especie humana (Yu-Poth *et al.*, 1999). El ácido linoleico (C18:2 n-6) es el precursor de las prostaglandinas y los tromboxanos, muy relacionados con el equilibrio cardiovascular. La composición en ácidos grasos también afecta a la calidad tecnológica de la carne ya que un mayor contenido en ácidos poliinsaturados confiere una grasa más blanda y con mayor tendencia a padecer enranciamiento oxidativo. Además, la composición de ácidos grasos de la grasa de las canales del cerdo Ibérico es el criterio oficial para determinar su calidad (De Pedro, 1998).

Existen varios proyectos interesados en la detección de QTLs para caracteres de calidad de la canal y de la carne basados en un barrido total del genoma mediante marcadores moleculares tipo microsatélite en un cruce F_2 entre líneas divergentes. Andersson *et al.* (1994) publicaron el primer trabajo descrito en porcino, en el que encontraron asociación de un QTL en el cromosoma 4 con deposición de grasa, así como con longitud del intestino delgado, y que ha sido confirmado por otros autores (Marklund *et al.*, 1999; Wang *et al.*, 1998; Walling *et al.*, 1998; Pérez-Enciso *et al.*, 2000). Más recientemente otros QTLs, con efecto sobre el porcentaje de grasa intramuscular, posicionados en el cromosoma 6 han sido descritos De Koning *et al.* (1999) y Ovilo *et al.* (2000). En el presente trabajo se describe la existencia de QTLs para composición de ácidos grasos en el tejido adiposo subcutáneo dorsal en un cruce experimental F_2 de cerdo Ibérico x Landrace.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un cruce F_2 entre 3 machos Ibéricos de la estirpe Guadyerbas con 31 hembras Landrace procedentes de *Nova Genètica S.A.* Evitando el cruce entre hermanos se obtuvieron 577 animales a partir de 7 machos y 73 hembras F_1. (IbMap Consortium, 1998). En este estudio se presentan los resultados del análisis de 321 F_2 pertenecientes a 58 familias.

Los caracteres analizados fueron el porcentaje en ácidos grasos, la longitud media de la cadena de carbonos de los ácidos grasos (**ACL** = $\sum(F_{ni} \times n_i)/100$, donde F_{ni} indica el porcentaje de ácidos grasos con una longitud media de cadena de n_i carbonos), el índice de dobles enlaces (**DBI** = $\sum(UF_{bi} \times b_i)/100$, donde UF_{bi} es el porcentaje de ácidos grasos insaturados con b_i dobles enlaces), el índice de insaturación (**UI** = DBI/porcentaje de ácidos grasos saturados) y el de peroxidabilidad (**PI** = $(0.025 \times \sum(UF_1) + \sum(UF_2) + \sum(UF_3))/100$).

Se utilizaron un total de 97 marcadores moleculares (95 microsatélites y 2 RFLPs) distribuidos uniformemente por todo el genoma. El análisis de los productos amplificados se realizó en un ABI PRISM 310 *Genetic Analyzer* y los genotipos obtenidos se almacenaron en la base de datos GEMMA (Iannucelli *et al.*, 1996). Los

polimorfismos RFLPs se localizan en el exón 2 del gen Dienoil Coenzima A Reductasa (DECR) y en el exon 2 del gen de la hormona del crecimiento (GH).

El mapa de ligamiento de todos los cromosomas se obtuvo con la opción "build" del programa CRI-MAP versión 2.4 (Green *et al.*, 1990). El método de análisis de detección de QTLs que se utilizó fue el descrito por Haley *et al.* (1994), en el modelo lineal de regresión: $Y = sexo + familia + covariable + c_a a + c_d d + e$. Las covariables fueron, o el peso de la canal, o el espesor de tocino dorsal, separadamente.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se detalla el porcentaje de los ácidos grasos analizados en la F_2. El ácido graso más abundante fue el oleico, seguido del palmítico, el linoleico y el esteárico.

Tabla 1. Valores fenotípicos para los ácidos grasos en el tocino dorsal en los animales F_2 analizados.

Carácter	N	Media	d.t.
% Mirístico (C14:0)	321	1,5	0,17
% Palmítico (C16:0)	321	21,8	1,46
% Palmitoleico (C16:1)	321	2,47	0,37
% Esteárico (C18:0)	321	10,88	0,91
% Oleico (C18:1n-9)	321	44,12	1,67
% Vaccénico (C18:1n-7)	321	2,94	0,28
% Linoleico (C18:2)	321	14,43	1,45

Carácter	N	Media	d.t.
% Linolénico (C18:3)	321	1,08	0,18
% Gadoleico (C20:1)	321	0,86	0,21
%Eicosadienoic (C20:2)	321	0,63	0,17
ACL	321	17,5	0,04
DBI	321	0,84	0,03
UI	321	2,52	0,23
PI	321	18,49	1,6

Se detectó asociación con la composición de ácidos grasos en 5 cromosomas (Tabla 2). El efecto en el cromosoma 4 reduce el contenido en ácido linoleico cuando el alelo Ibérico está presente, por lo que DBI y PI se ven disminuidos. En la misma región también se ha encontrado asociación con deposición de grasa y longitud de la canal. Efectos equivalentes han sido detectados en esta región por Andersson *et al.* (1994), Wang *et al.* (1998), Walling *et al.* (1998) y Bink *et al.* (2000), por lo que es razonable pensar que se trate del mismo QTL. Es probable que estos efectos sean debidos a un solo QTL con efectos pleiotrópicos debido a que el alelo ibérico aumenta el espesor de tocino dorsal y reduce a la vez el porcentaje de ácido linoleico. Este ácido graso es esencial, por lo cual no aumenta su depósito en el tejido adiposo en animales con mayor capacidad de síntesis de ácidos grasos.

El intervalo de confianza para la posición del QTL detectado en el cromosoma 6 cubre casi todo el cromosoma. Este cromosoma también presenta asociación con grasa intramuscular y espesor de tocino dorsal (Ovilo *et al.*, 2000). De Koning *et al.* (1999) sugirieron la presencia de un QTL en la misma región con efecto sobre el porcentaje de grasa intramuscular.

En los cromosomas 8 y 10, Rohrer *et al.* (1998) detectaron un efecto sobre deposición de grasa, pero solo en el caso del cromosoma 10, su localización coincide con la del QTL de ácidos grasos.

Los resultados encontrados en el cromosoma 12 se muestran en la dirección esperada, ya que los ácidos grasos poliinsaturados, linolénico y gadoleico, disminuyen en Ibérico, mientras que el ácido graso monoinsaturado, vaccénico, aumenta cuando el alelo ibérico está presente. De acuerdo con estos resultados, ACL y PI tienen el efecto esperado. Otros trabajos han encontrado asociación del gen de la hormona de crecimiento (GH) con caracteres de deposición de grasa (Knorr et al., 1997). Este gen se localiza en una posición cercana al QTL de ácidos grasos en el cromosoma 12.

Para las regiones descritas se está procediendo a la obtención de mapas de mayor resolución con marcadores adecuados, que permitirán el estudio sobre genes candidatos por fisiología y posición. Para esta aproximación, el uso de mapas comparativos ratón/humano resultará de gran utilidad.

Tabla 2. Valores máximos de F significativos, indicando su posición cromosómica, el efecto aditivo y el dominante. Nivel de significación genómico del 5% F=8,53 (*), 1% F=10,39 (**) y 0,1% F=13,07 (***).[a] nivel de significación cromosómico del 5%, [b] nivel de significación cromosómico del 1%.

Cromosoma	Carácter	Posición	F	a	d.t.	d	d.t.
4	% Linoleico	75	***	-0,652	0,112	-0,004	0,164
4	% Oleico	76	7,14[b]	0,471	0,129	-0,166	0,191
4	DBI	73	*	-1,01	0,228	-0,257	0,329
4	PI	75	***	-0,74	0,13	-0,047	0,192
6	% Palmítico	44	7,858[b]	0,284	0,095	0,352	0,132
6	% Esteárico	13	7,094[b]	0,268	0,118	0,723	0,231
6	% Linoleico	107	6,6[a]	-0,281	0,129	0,478	0,18
6	ACL	44	7[a]	-0,74	0,276	-1,01	0,385
6	DBI	105	*	-0,826	0,264	0,995	0,383
6	UI	34	*	-0,06	0,021	-0,114	0,036
8	% Palmítico	86	*	0,407	0,098	-0,066	0,144
8	% Palmitoleico	86	**	0,136	0,028	-0,072	0,041
8	ACL	86	**	-1,41	0,284	0,425	0,416
10	% Mirístico	82	*	0,07	0,017	0,021	0,036
12	% Vaccénico	21	6,75[b]	0,103	0,034	-0,138	0,06
12	% Linolénico	31	*	-0,03	0,016	0,094	0,024
12	% Gadoleico	25	8,42[b]	-0,079	0,022	-0,057	0,036
12	ACL	16	7,8[b]	-1,442	0,366	0,194	0,659
12	PI	24	6,4[a]	-0,383	0,166	0,807	0,281

BIBLIOGRAFIA

-Andersson L., Haley C., Ellegren H., Knott S., Johansson M., Andersson K., Andersson-Eklund L., Edfords-Lilja I., Fredholm M., Hansson I., Hakansson J., Lungström K., 1994. Science 263: 1771-1774.

-Bink M., Te Pas M., Harders F., Janss L., 2000. Genet. Res. 75(1): 115-121.

-De Koning D., Janss L., Rattink A., Van Oers P., De Vries B., Groenen M., Van Der Poel J., De Groot P., Brascamp E., Van Arendonk J., 1999. Genetics 152: 1679-1690.

-De Pedro E., 1998. Sólo Cerdo Ibérico. 1:87-92.

-Green P., Falls K., Crooks S., 1990. http://biobase.dk.embnetut/Crimap.

-Haley C., Knott S., Elsen J., 1994. Genetics 136: 1195-1207.

-Iannucelli E., Woloszyn N., Arhainx J., Gellin J., Milan D., 1996. Proc. Intl. Soc. Anim. Genet. Conf., Tours, Francia pág. 98.

-IBMAP Consortium, 1998. Proc. 6th World Cong. Genet. Appl. Livest. Prod. Armidale, Australia 26: 316-319.

-Knorr C., Moser G., Müller E., Geldermann, H., 1997 Anim. Genet. 28: 124-128.

-Marklund L., Nyström P., Stern S., Andersson-Eklund L., Andersson L., 1999. Heredity 82: 134-141.

-Ovilo C., Pérez-Enciso M., Barragan C., Clop A., Rodríguez M., Oliver M., Toro M., Noguera J., 2000. Mamm. Genome 11: 344-346.

-Pérez-Enciso M., Clop A., Noguera J., Ovilo C., Coll A., Folch J., Babot D., Estany J., Oliver M., Díaz I., Sánchez A., 2000. J. Anim. Sci. 78: 2525-2531.

-Rohrer G., Keele J., 1998. J. Anim. Sci. 76: 2247-2254.

-Walling G., Archibald A., Cattermole J., Downing A., Finlayson H., Nicholson D., Visscher P., Walker C., Haley C., 1998. Anim. Genet. 29: 415-424.

-Wang L., Yu T., Tuggle C., Liu H., Rothschild M., 1998. J. Anim. Sci. 76: 2560-2567.

-Yu-Poth S., Zhao G., Etherton T., Naglak M., Jonnalagadda S., Enser M., 1999. Am. J. Cl. Nutr. 69: 632-646.

AGRADECIMIENTOS: Trabajo financiado por la CICYT (AGF96-2510)

INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A –80ºC Y DE LA TEMPERATURA DE DESCONGELACION SOBRE DOSIS ESPERMATICAS PORCINAS DE BAJA CALIDAD. I. MOVILIDAD.

Vidal.A.[2];Valdelvira,J.[1];Alonso, J.[1]; Gosálvez,L.F[1].
[1]Departamento de Producción animal. Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 177. 25198-Lleida.
[2]Diputación de Lleida. C/ Carme, 26. 25007 – Lleida. España

INTRODUCCION

Actualmente, la congelación de semen porcino se emplea para la mejora genética, así como en la creación de bancos de germoplasma que permitirán mantener la diversidad genética en el futuro (Vázquez et al., 1999). La limitación en el uso comercial del semen congelado es su alto coste, si bien los resultados productivos obtenidos pueden llegar a ser aceptables cuando se comparan con los de semen fresco (Gil et al., 1996). Otro inconveniente es la necesidad de un mayor control en la detección de celos cuando empleamos semen congelado (Gil et al., 1996).

La temperatura de conservación empleada ha sido tradicionalmente –196 ºC, utilizando el nitrógeno líquido por sus ventajas económicas y de manejo de las muestras, tanto en laboratorio como en campo, así como su alto grado de efectividad en otras especies (Polge, 1956; Bwanga et al., 1990). No obstante el empleo de -80ºC como alternativa al nitrógeno líquido ya se apuntaba como no descartable desde hace mucho tiempo (Pursel y Johnson 1975; Larson et al, 1977).

Distintos autores muestran que el deterioro del espermatozoide se produce en gran medida durante la descongelación (Courtens y Paquignon, 1985; Bwanga, 1991) siendo el acrosoma la región más sensible de la célula y el primer lugar por donde el frío produce lesiones, (Watson y Plumber, 1985). El ánimo del presente estudio es evaluar la influencia del tiempo de conservación y temperatura de descongelación sobre la movilidad en muestras de baja calidad inicial (15ºC).

MATERIAL Y METODOS

En el presente trabajo se han estudiado 15 muestras de semen heterospérmico procedentes de verracos, aleatoriamente elegidos, de genética PIC 411, con una edad entre 8 y 28 meses, testados periódicamente y alojados en condiciones estándar en un centro de I.A.

Las muestras de semen venían presentada en blister de 80 ml, almacenándose en un frigorífico entre 15-18ºC. El trabajo comenzaba a las 24 horas de la producción de las dosis, el primer paso consistía en observar la movilidad y calidad del movimiento. Posteriormente se centrifugaban a 1500 r.p.m. durante 10 minutos, eliminando el sobrenadante y quedando un sedimento de células espermáticas (pellet), de un volumen aproximado de 2,5 ml. Al pellet se le agregaban 2,5 ml de diluyente L-Y, (lactosa, 11%; yema de huevo, 20%) agitando suavemente con el fin de conseguir una solución homogénea. Después se bajaba la temperatura de 15ºC a 5ºC en 1,5 horas. Una vez alcanzada la temperatura de 5ºC se añadían 5 ml de crioprotector L-Y-G-OEP, (lactosa-yema, 95%; glicerol, 4%; OEP, 1%), agitando suavemente para homogeneizar. Posteriormente se envasaban las dosis en pajuelas plásticas de 0,5 ml las cuales se sometían a congelación en vapores de nitrógeno a 5 cm de la superficie líquida durante 20 minutos, momento en el que se procedía a la introducirlas en el congelador de -80ºC donde se conservaban.

La descongelación se realizó en intervalos de tiempo comprendidos entre 3, 10 y 30 días. Se emplearon 3 temperaturas y 3 tiempos distintos de descongelación; a 22ºC, y 40 segundos; a 42ºC y 20 segundos; a 50ºC y 10 segundos. Para el estudio de la movilidad masal se ha seguido la técnica descrita por Sánchez (1991).

El estudio estadístico se ha realizado mediante un glm con el programa estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se muestran los resultados de la movilidad tras descongelar la muestras. En ella vemos que la mayor movilidad se produce a temperaturas de descongelación de 42ºC (25,1% ± 1,2), comparando estos valores con 22ºC (21,4% ± 1,3), y con 50ºC (23,8% ± 1,5), siendo estos porcentajes menores al 50% conseguido por Hofmo y Almlid, (1991) y Watson, (1995). Aunque hay que tener en cuenta que nuestro material de partida era semen de baja calidad, con una movilidad, a 15ºC, del 70%. En cuanto a la relación entre movilidad y tiempo de almacenamiento, la mejor movilidad se obtiene para el día tres, ya que la tendencia observada es que ha medida que aumenta el tiempo de almacenamiento disminuye la movilidad, aunque sin significación estadística. Esto difiere de lo hallado por Kojima et al., (1971), que indica que a partir de una hora de conservación se equipara la movilidad poscongelación con la movilidad en fresco (15ºC)

De nuestro estudio podemos concluir que la calidad de las muestras de partida influye en el perjuicio ocasionado por la congelación, por lo que es necesario tener en cuenta, a la hora de congelar muestras, el efecto del eyaculado individual más que el efecto macho. Ya que los machos utilizados en las dosis heterospérmicas son considerados de alta calidad para I.A. en fresco.

BIBLIOGRAFIA

1 Bwanga C.O., de Bragança M.M., Einarson S., Rodriguez – Martinez H., 1990. Cryopreservation of boar semen in mini and maxi-straws. J.Vet.Med.A. 37 (9), 651-658.

2 Bwanga C.O., 1991. Cryopreservation of boar semen I: A literature review. Acta vet. Scand. 32, 431 - 453.

3 Courtens J.L., Paquignon M.,1985. International Congress on Animal Reproduction. Uppsala, Sweden.

4 Gil J., Jimenez M., Díaz C., Sanchez R., Martín S.,1996. Swine AI with frozen boar semen in work routine. Reproduction in domestic animals. 31(1), 289-290.

5 Hofmo P.O. and Almlid T., 1991. Recent developments in freezing of boar semen with special emphasis on cryoprotectants.Boar semen preservation II, Maryland, USA, Augus, USA. 1990. 19-121.

6 Larsson K., Einarsson S., Bane A., Swensson T., 1977. Research and development on deep freezing of boar semen. Haallsta, Sweden.

7 Kojima Y., Bamba K., Lida I., 1971. Effects of dilution rate and partial dialysis on freezability of boar espermatozoa. Bulletin of the Faculty of Agriculture Shizuoka University. 21, 39-41.

8 Polge C.,1956. Artificial insemination in pigs.The Veterinary Record. 68, 62-76.

9 Pursel V.G., Johnson L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa:fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure.Journal of Animal Science. 40(1), 99-102.

10 Sánchez R., 1991. Control de calidad espermática. Anaporc. 104, 27-33.

11 S.A.S., 1999. SAS Inst. Inc. USA.

12 Vazquez J. M., Martínez E., Roca J., Lucas X., Parrilla I., Gil M. A., 1999. Métodos y estrategias en la evaluación de espermatozoides criopreservados de verraco. Lugo, II Congreso Ibérico de Reproducción Animal. 377-381.

13 Watson P. F., Plummer J. M., 1985. The responses of boar sperm membranes to cold shock and cooling. Johnson-LA and Larsson, K. Congress Deep Freezen of Boar Semen, 113-127. Uppsala, Sweden.

14 Watson P.F., 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post – thawing function. Reprod. Fertil. Dev.(7). 871 –869.

INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A -80°C Y DE LA TEMPERATURA DE DESCONGELACION SOBRE DOSIS ESPERMATICAS PORCINAS DE BAJA CALIDAD. II. ACROSOMIA.

Valdelvira J.J.[1]; Vidal A.[2]; Alonso J.[1]; Gosálvez L.F.[1]
[1]Departamento de Producción animal. Universidad de Lleida, Av. Rovira Roure, 177. 25198-Lleida.
[2]Diputación de Lleida. C/ Carme, 26. 25007 – Lleida. España

INTRODUCCION

Uno de los retos actuales de la I.A. porcina es la utilización de semen congelado a nivel industrial, que en estos momentos, debido a su alto coste, solo se emplea a nivel experimental (Bwanga, 1991). Aunque ya hay autores que indican que se pueden conseguir resultados similares a los obtenidos con dosis en fresco (15°C)(Gil et al., 1996). Uno de los obstáculos a salvar es el elevado número de espermatozoides con acrosoma lesionado que causa la congelación, debido a que esta es la región más sensible de la célula y el primer lugar donde el frío produce daños (Watson y Plumber, 1985). Las lesiones sufridas se derivan tanto del enfriamiento, congelación y descongelación (Morris y Watson,1984), como del tiempo de almacenamiento de las dosis (Watson, 2000). Por lo que la temperatura de descongelación es un parámetro crucial (Thilmant, 1998; Eriksson y Rodriguez-Martinez, 2000)

La conservación de los espermatozoides a temperaturas distintas a –196°C es desde hace tiempo un hecho (Pursel y Johnson 1975; Paquignon y Courot, 1976; Larson et al., 1977), encontrándose que la temperatura de –80°C, por su efecto sobre los acrosomas, es aceptable como alternativa al uso clásico del nitrógeno líquido (-196°C).

El ánimo del presente estudio es evaluar la influencia del tiempo de conservación y temperatura de descongelación sobre la acrosomía en muestras de baja calidad inicial (15°C).

MATERIAL Y METODOS

Para realizar el presente trabajo se han utilizado las muestras ya mencionadas en el trabajo presentado por nosotros en este mismo congreso (Influencia del tiempo de almacenamiento a -80°C y de la temperatura de descongelación sobre dosis espermáticas porcinas de baja calidad. I Movilidad). El procesado de las muestras previo a la congelación y durante ella, es el mismo que el seguido en la ponencia antes mencionada.

La descongelación se realizó en intervalos de tiempo comprendidos entre 3, 10 y 30 días. Se emplearon 3 temperaturas y 3 tiempos distintos de descongelación; a 22°C, y 40 segundos; a 42°C y 20 segundos; a 50°C y 10 segundos.

Para el estudio de la acrosomia, se ha analizado el porcentaje de espermatozoides con el acrosoma intacto (NAR), basándonos en la técnica descrita por Sánchez (1991).

El estudio estadístico se ha realizado mediante un glm con el programa estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se observa como el mayor número de acrosomas normales (NAR) se obtienen para las temperaturas de descongelación de 42°C y 50°C (32,6% ± 1,6), no apareciendo diferencias significativas entre estos dos resultados. Diversos autores consiguieron un valor de NAR superior al hallado en este estudio, (Larson, 1985; Hofmo y Almlid, 1991; Watson, 1995). Hemos empleado dosis espermáticas de baja calidad a 15°C, con un NAR del 80%. La temperatura de descongelación de 22°C ha resultado ser la peor de las tres. La relación entre NAR y tiempo de almacenamiento es similar a la hallada para la movilidad, obteniéndose el mejor para el día 3 de almacenamiento. Al desaparecer las diferencias estadísticas entre el día 10 y 30, se puede deducir que las lesiones se producen entre los días 3 y 10 de conservación, afectando a los acrosomas más sensibles a la

congelación. Esta tendencia no ha sido hallada por otros autores a –196ºC, (Almlid et al.,1987; Kuo, 1984). Lo que parece indicar que la temperatura de –80ºC es únicamente aconsejable para mantenimiento de dosis a corto plazo.

Nuestros resultados indican que la temperatura de descongelación influye marcadamente en el resultado de la congelación, así como la calidad de las muestra de partida, ya que los daños causados por la congelación son mayores en este tipo de muestras que en estudios realizados por nosotros con semen de alta calidad (Gosálvez et al., 1999). Por otro lado indicar que la conservación de dosis a –80ºC es una posible solución para el almacenamiento de dosis en centros de inseminción durante cortos periodos de tiempo.

Es necesario realizar más investigación en este campo, estudiando más animales así como realizando inseminaciones, con el fin de ver la viabilidad "in vivo" de estas muestras.

BIBLIOGRAFIA

1 Almlid T., Stavne S.E., Johnson L.A., 1987. Fertility evaluation of the straw freezing technique for boar semen under practical artificial insemination conditions. Zuchthygiene, 22 (5), 193 – 202.

2 Bwanga C.O., 1991. Cryopreservation of boar semen I: A literature review. Act. vet. Scand. 32, 431 - 453.

3 Eriksson B.M., Rodriguez-Martinez H., 2000. Effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in flatpacks and maxi-straws. Anim. Reprod. Sci. 63, 205-220.

4 Gosálvez L.F., Valdelvira J.,Vidal A., Boira D., 1999. Resultados de congelar dosis heterospérmicas porcinas, según cantidad y tiempo de penetración del glicerol. IX Congreso de Zootecnia. 36. Oporto (Portugal).

5 Gil J., Jiménez M., Díaz C., Sánchez R., Martín S.,1996. Swine AI with frozen boar semen in work routine. Reproduction in domestic animals. 31(1), 289-290.

6 Hofmo P.O. and Almlid T., 1991. Recent developments in freezing of boar semen with special emphasis on cryoprotectants. Boar semen preservation II, Maryland, USA, August, USA. 1990. 19-121.

7 Kuo Y.H., 1984. Journal of the Agricultural Association of China., 128, 53-56.

8 Larsson K., Einarsson S., Bane A., Swensson T., 1977. Research and development on deep freezing of boar semen. Haallsta, Sweden.

9 Larsson K., 1985. Boar sperm viability after freezing and thawing. International Congress on Animal Reproduction. Uppsala, Sweden

10 Morris G.J., Watson P.F., 1984. Cold–sock injury, a comprehensive bibliography. Cryoletters. 5, 352 - 372.

11 Paquignon M., Courot M.,1975. Fertility and prolificacy of sows inseminated with frozen boar semen. Ann.Zootech., (4).

12 Pursel V.G., Johnson L.A., 1975. Freezing of boar spermatozoa: fertilising capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. J. Anim. Sci. 40(1), 99-102.

13 Sánchez R., 1991. Control de calidad espermática. Anaporc. 104, 27-33.

14 S.A.S., 1999. SAS Inst. Inc. USA.

15 Thilmant T., 1998. Cryopreservation of boar semen in 0,5 ml french straws. 10th Meeting 28 – 30 October. Bruges. Belgium.

16 Watson P. F., Plummer J. M., 1985. The responses of boar sperm membranes to cold shock and cooling. Johnson-LA and Larsson, K. Congress Deep Freezen of Boar Semen, 113-127. Uppsala, Sweden.

17 Watson,P.F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Animal Reproduction Science. 60-61, 481- 492.

18 Watson P.F., 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post – thawing function. Reprod. Fertil. Dev.(7). 871–869.

VALORACIÓN GENÉTICA PRELIMINAR DE REPRODUCTORES DE GANADO CAPRINO LECHERO DE RAZA MURCIANO-GRANADINA

Hernández[1], D.; Ruiz[2], I.; Pérez-Guzmán[3], M.D.; Falagan[4], A.; y Jurado[1] , J.J.

[1]Dpto. Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Madrid.
[2]Asociación Criadores de cabra Murciano-Granadina (ACRIMUR). Jumilla.
[3]CERSYRA . Valdepeñas.
[4]Centro Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CIDA). Murcia.

INTRODUCCIÓN

Desde 1979 se vienen realizando controles sistemáticos de rendimiento en las ganaderías de cabras de la raza Murciano-Granadina asociadas a ACRIMUR. En sus inicios el control se basaba en la producción láctea, para posteriormente abarcar los parámetros de calidad de la leche, y en la actualidad se está implantando la recogida de la medida de recuento de células somáticas individualizados. En 1999, ACRIMUR convocó a distintos organismos (CIDA, CERSYRA, INIA, Universidad de Córdoba, MAPA), para poner en marcha un esquema de selección en la cabra de raza Murciano-Granadina. Como paso previo a la implantación de un programa de mejora, se hizo un análisis de la base de datos productivos y genealógicos, realizándose la primera valoración genética en Otoño de 2000.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL

La recopilación de los controles productivos y de los registros genealógicos ha sido coordinada por el personal de ACRIMUR en colaboración con los técnicos del CIDA y CERSYRA así como con los ganaderos de Andalucía, Baleares, y Comunidad Valenciana. La base de datos original constaba de más de 45.000 lactaciones.

Una vez eliminados los errores clásicos de las bases de datos, se seleccionaron aquellas lactaciones que tuvieran al menos dos controles realizados y un intervalo entre parto y primer control no superior a 60 días. El número de lactaciones totales incluidos en los distintos análisis fue de 37.593. Se utilizaron los datos de producción de leche, grasa, proteína y extracto seco. Las lactaciones se calcularon mediante el método Fleishmann (1) obteniéndose la leche tipificada a 210 días (L210), leche total (Lreal), porcentajes de proteína, grasa y extracto seco (PP, PG, PES). Las lactaciones con controles faltantes fueron extendidas siguiendo lo descrito por Hernández, 1991 (2).

Dadas las características de los datos (20.300 cabras con al menos una lactación y 22.539 animales genealógicos), donde las conexiones entre individuos de diferentes rebaños son escasas, se estimó oportuno que las valoraciones genéticas de las hembras fueran consideradas intrarebaños a todos los efectos, suministrándose a cada ganadero las valoraciones únicamente de los animales de su propio rebaño, e indicándole que no son comparables con las de animales pertenecientes a otros ganaderos. Se valoraron los machos que tuvieran descendientes en al menos dos rebaños.

MODELO ESTADÍSTICO

Se realizaron diversos análisis estadísticos para determinar qué efectos macroambientales explicaban mejor la variación en los datos mediante SAS (3). Se probaron los efectos rebaño, año y época de parto, número de lactación, tipo de parto, intervalo entre partos, duración de la lactación, número de controles, intervalo entre parto y primer control y las interacciones posibles entre estos efectos.

VALORACIÓN GENÉTICA

La metodología utilizada para la valoración genética de los reproductores, ha sido la conocida como BLUP Modelo animal con medidas repetidas. Los parámetros genéticos utilizados (Tabla I) se calcularon ponderando los obtenidos en distintas referencias bibliográficas (4,5,6). El paquete de programas empleados son el BLUPAM (7). La varianza del error de predicción se estimó mediante el método aproximado de Meyer (8).

Tabla I.- Parámetros genéticos utilizados en la valoración genética.

	L210	Lreal	PG	PP	PES
Heredabilidad	0.25	0.25	0.30	0.28	0.25
Repetibilidad	0.40	0.40	0.40	0.40	0.35

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La duración media de la lactación fue de 207 días, el intervalo medio entre el parto y primer control fue de 30 días y 6 el número medio de controles por lactación. Las estimas de las medias de los caracteres analizados fueron de 408,9 (±12,6), 430,1 (±18,1), 5,2 (±0,79), 3,6 (± 0,4) y 14,4 (±1,1) para L210, Lreal, PP, PG, PES respectivamente. Las estimas de los niveles de NL y TP se presentan en la Tabla II.

El modelo estadístico que mejor explicaba la incidencia de los efectos ambientales sobre los caracteres productivos ($r^2 = 0.54$) incluye los siguientes factores:

- Grupo móvil de comparación (GC): formado por la combinación de los efectos rebaño, año y época de parto. Dado el reducido tamaño de los rebaños se optó por hacer la época de parto móvil, agrupando en un único GC a las cabras paridas en un mismo rebaño y año, pudiendo ser la época de parto desde un mes hasta 5 meses consecutivos. Se obtuvieron 1485 niveles habiendo un mínimo de 6 observaciones por GC.
- Número de lactación (NL): se consideraron las lactaciones 1,2,3,4,5, más de 5 y se formó un grupo con lactación desconocida.
- Tipo de parto (TP): se consideró parto simple, doble, múltiple y desconocido.
- Intervalo parto-primer control se incluyó este efecto como covariable.

Tabla II.- Valores de cada clase de Número de Lactación (NL) y Tipo de Parto (TP) desviados de la media general para cada carácter incluido en la valoración.

		L210	Lreal	PP	PG	PES
NL	**1**	-72.2	-108.5	-0.05	-0.10	-0.12
	2	22.1	37.6	0.02	-0.01	-0.05
	3	54.0	76.8	0.05	0.01	-0.06
	4	57.7	81.2	0.04	0.03	-0.07
	5	47.0	60.3	0.03	0.08	-0.07
	>5	22.1	31.2	0.06	0.15	-0.02
	Desc.	-20.0	-45.5	-0.04	0.06	0.47
TP	**Simple**	-52.0	-66.6	-0.02	-0.01	0.03
	Doble	22.9	28.9	0.01	0.00	-0.01
	Múltiple	72.9	97.5	0.05	0.02	-0.04
	Desc.	-11.3	-56.3	-0.20	-0.23	0.02

Por tanto, se realizó una valoración genética de los reproductores bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + GC_i + NL_j + TP_k + b\,(x - x)_{ijkl} + u_{ijklm} + EP_{ijklm} + e_{ijklm}$$

Donde :

Y_{ijklm} es el carácter evaluado (L210, Lreal, PP, PG, PES).

• es la media general.

GC_i es el grupo móvil de comparación al que pertenece el dato.

NL_j es el número de lactación.

TP_k es el tipo de parto.

x es el intervalo parto-primer control (covariable).

u_{ijklm} es el efecto aditivo del animal que produce el dato.

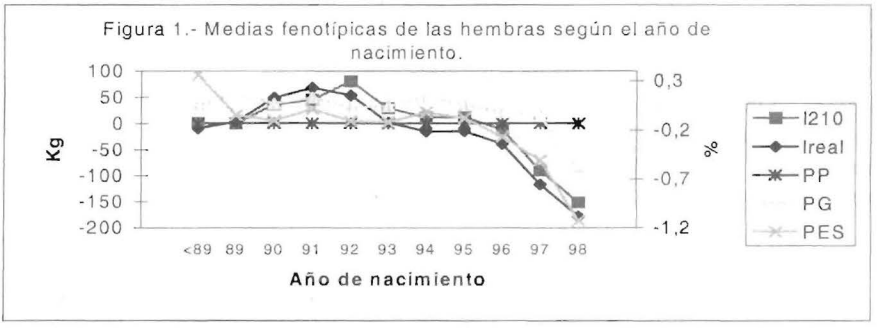
EP_{ijklm} es el efecto ambiental permanente al haber varias lactaciones por animal.

e_{ijklm} es el efecto residual.

Las medias fenotípicas no muestran una tendencia clara a los largo de los años excepto el porcentaje de proteína que parece ser muy estable (Figura 1). Sin embargo, se observa una disminución importante en las reproductoras de primera o segunda lactación (nacidas en el 97 y 98). Los valores genéticos muestran una gran oscilación entre los individuos extremos (tabla III).

Tabla III.- Valores genéticos extremos de los sementales evaluados.

	L210	Lreal	PG	PP	PES
Máximo	78.9 Kg	106.7 Kg	0.5	0.19	0.37
Mínimo	-94.3 Kg	-89.8 Kg	-0.7	-0.38	-0.8



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(1) **Craplet, C.; Thibier, M.** 1973. Edit. Vigot, Paris.

(2) **Hernández, D.** 1991. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.

(3) **SAS Instute Inc.** 1989. Cary, N.C..

(4) **Bishop, S.; Sullivan, B.P.** 1994. Proc. 5th WCGALP, Guelph, Ontario, Canada 18: 175-177.

(5) **Boichard, D. et al.** 1989. Génét. Sélect. Evol. 21:205-215.

(6) **Wiggans, G.R. et al.** 1994. Proc. 5th WCGALP, Guelph, Ontario, Canada 18: 178-181.

(7) **Jurado, J.J.; Hernández, D.** 1990. Catálogo de Software de interés en agricultura. Fundesco.

(8) **Meyer, K.,** 1989. Livestick Production Science 21:87-100.

Efecto del sexo y de la zona de cría sobre el momento óptimo del sacrificio en terneros de raza barrosã

A. N. V. B. V. Brito, J. C. O. Lopes y R. M. Pereira da Silva
Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Escola Superior Agraria de Ponte de Lima
Refóios – 4990 – Ponte de Lima – Portugal

INTRODUCCIÓN

La conservación de las razas autóctonas es actualmente considerada, de forma unánime, como una prioridad de carácter biológico, cultural e incluso sentimental. La diversificación de la producción agrícola y la conservación del paisaje rural y del ambiente están relacionadas, de forma inequívoca, con la producción animal, y de forma más particular, con los sistemas agroecológicos de montaña, en los que las razas bovinas autóctonas tienen especial importancia.

La conservación de la raza bovina Barrosã contribuye a la fijación de poblaciones en zonas de recursos escasos, en virtud de su elevado potencial productivo.

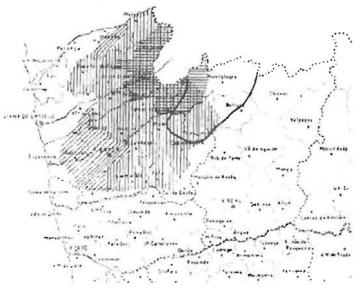


Figura 1. Solar e área de criação da raça.

El área de producción de la raza bovina Barrosã se extiende esencialmente en dos regiones agrícolas la región de Entre–Douro e Minho y la región de Trás–os–Montes e Alto Douro, con una concentración más elevada en el Minho y en el Barroso (Figura 1).

Los efectivos actuales de la raza Barrosã son de cerca de 7396 animales adultos (Amiba, 1999). Se observa una disminución significativa de machos (fundamentalmente por el éxodo de la población rural y la mecanización), mientras que la disminución en el número de hembras (de 88709 animales en 1976 a 6963 en 1999, cerca del 92%) se justifica, además de las razones anteriores, por la sustitución por razas de aptitud lechera y la introducción de nuevas costumbres.

La carne Barrosã es un producto certificado con denominación de origen protegida (D.O.P.), por lo que representa un producto de elevado valor con características peculiares y permite el aumento de las ganancias para el productor, factor decisivo en el desarrollo de la raza.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron 110 animales con edades comprendidas entre 139 y 292 días, en los que se determinó el peso y el rendimiento de la carcasa. Todos los animales estaban inscritos en el Libro Genealógico de la raza y procedían de diferentes localizaciones dentro del área de producción, siendo pesados 24 h antes del sacrificio.

Se estudiaron los efectos sexo (machos - 1 y hembras - 2) y zona de cría, para lo que se definieron 3 zonas: zona 1 – **valle** (< 400 m), zona 2 – **ladera** (400 a 700 m) e zona 3 – **montaña** (> 700 m). Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS®. El intervalo de confianza utilizado fue del 95% (P• 0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En lo que a la influencia del sexo sobre el rendimiento de la carcasa se refiere, no se detectaron diferencias significativas (P> 0,05) entre machos y hembras, aunque los valore observados fueron aritméticamente mayores en los machos (49,923%) que en las hembras (49,767%). Este hecho podría explicarse por el sistema de cría característico de la raza, con un segmento de producción lechera reducido, ausencia de efecto paterno marcado (por el elevado número de padres) y por la precoz edad en el momento del sacrificio, lo que no permite una evidencia marcada de dimorfismo sexual. (Tabla 1)

Tabla 1. Efecto del sexo sobre el rendimiento de la canal (media ± error estándar).

Sexo	Número	Rendimiento (%)
1	49	$49,923^{a} \pm 2,235$
2	61	$49,767^{a} \pm 2,072$

"a" não significativo para P• 0,05

En el análisis del efecto de la zona de cría sobre el rendimiento de la canal se observaron diferencias significativas (P>0,05) entre zonas (Tabla 2). Los animales de la zona 1 (zona de valle) presentaron un rendimiento de la canal mayor a los de las zonas 2 y 3. Este hecho podría deberse a una mayor capacidad lechera de las vacas de la zona 1, sometidas a condiciones climáticas más favorables, alimentación más rica y, en ocasiones, mejor cuidado por parte de los productores que en las otras dos zonas consideradas. Estas premisas sugieren una posible potenciación de la capacidad lechera y de la duración de la lactación de las hembras de la raza Barrosã.

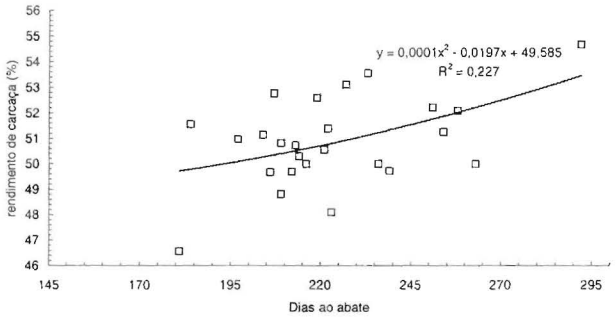
Tabla 2. Efecto da zona de cría sobre el rendimiento de la canal (media ± desvio padrão).

Zona de cría	Número	Rendimiento (%)
1	25	$50,898^{a} \pm 1,768$
2	54	$49,730^{b} \pm 2,107$
3	31	$49,165^{b} \pm 2,200$

a • b; P• 0,05

Para la determinación del momento óptimo de sacrificio (días), se procedió al agrupamiento de los animales de las zonas de cría 2 y 3. Mediante diversos modelos de regresión se estimó el que mejor se ajustaba a nuestra situación. Así, para la zona de cría 1, se obtuvo una regresión con una ecuación que se presenta en la Figura 2, y para las zonas 2 y 3, la ecuación de regresión correspondiente aparece en la Figura 3.

Como puede observarse, el rendimiento de la carcasa se comportó de forma distinta en función de la edad para cada una de las zonas de cría consideradas. El sistema actual de sacrificio, controlado por la D.O.P., prima el sacrificio de animales próximos a los 180 días. Los sistemas de explotación tradicionales comercializaban animales de cerca de 4 meses de edad, momento en que la hembra reduce su



capacidad lechera e inicia un nuevo ciclo reproductivo, evitando problemas causados por la reducida capacidad de estabulación del sistema de la raza. En este sentido, a partir de nuestras observaciones, es posible concluir que en las zonas de valle el mantenimiento de los animales durante períodos más largos de tiempo no tiene un efecto negativo sobre el rendimiento de la canal, al contrario de lo que sucede en las zonas de ladera y montaña, con reducción del rendimiento a medida que los animales envejecen.

La presión de la asociación de comercialización por respetar la edad al sacrificio no se justifica, por tanto, en las zonas de cría de valle, de la mejor alimentación y de eventual mayor producción lechera maternal, proponiendo comportamientos distintos por parte de la entidad financiadora en función de las áreas de producción.

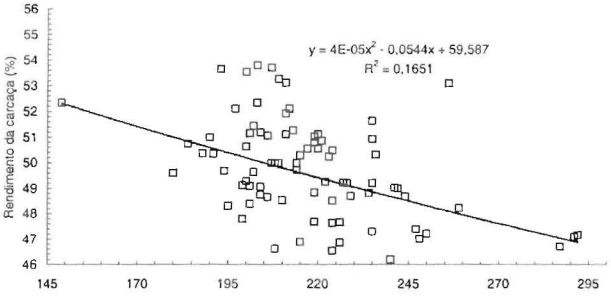


Figura 3. Rendimiento de la carcasa en función de la edad al sacrificio (días) en las zonas de cría de media costa y montaña

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GARCIA, M. L. G., ROSÁRIO, J., e ANTUNES, M., 1982. Raça Bovina Barrosã – Inquérito para a sua caracterização e seu sistema de exploração. Bovinos em Portugal. Direcção Geral dos Serviços Veterinários. Direcção de Serviços de Fomento e Melhoramento Animal.

LEITE, J.V., 2000. Barrosã. *In:* Catálogo de raças autóctones de Castela e Leão (Espanha) – Região Norte de Portugal. I. Espécies bovina e equina, Fundação Rei Afonso Henriques, pp. 77-89.

SILVA, R.M.P., 2000. Contributo para a determinação do momento óptimo de abate de vitelos na raça Barrosã. Relatório Final de Curso, Escola Superior Agrária de Ponte de Lima, 86 pp.

COMPARACIÓN DE MODELOS DE REGRESIÓN ALEATORIA APLICADOS A DATOS LONGITUDINALES DE PRODUCCIÓN DE LECHE UTLIZANDO FACTORES DE BAYES

P. López-Romero, Rekaya, R[1], M.J. Carabaño
Departamento de Mejora Genética y Biotecnología. INIA
[1] Department of Animal Sciences, University of Wisconsin, Madison, WI - USA

Introducción

En estudios previos (López-Romero y Carabaño, 2000) se compararon modelos de regresión aleatoria (MRA) que mantenían constante el componente residual a lo largo de la lactación. Se utilizó REML para la estima de componentes de varianza y criterios clásicos para la comparación de modelos. En este trabajo, se plantea la comparación de MRA con varianza residual heterogénea dentro de un contexto bayesiano, utilizando Factores de Bayes (FB) para establecer los criterios de comparación.

Material y Métodos

Se han utilizado PDC procedentes de primeras lactaciones completas (11 controles) registradas en Navarra durante los años 1988 -1998. Los datos fueron seleccionados entre los 5 y 335 días de la lactación, exigiéndose una edad al parto entre los 18 y 40 meses, un intervalo entre el parto y el primer control entre 5 y 67 días y un intervalo entre controles sucesivos entre los 26 y 67 días. Tras este proceso se originó un archivo con 47.982 PDC pertenecientes a 4769 lactaciones, con una producción media de 25,73 ± 7,09 kg producidos en una duración media de 321,42 ± 8,25 días. El número de animales en el archivo de genealogía fue 10.068.

Se han *estimado parámetros genéticos para PDC* utilizando MRA con varianza residual (VR) heterogénea en función de 3 intervalos arbitrarios a lo largo de la lactación definidos entre los días: 5-75, 76-265 y 266-335. Basándonos en un estudio preliminar (López-Romero y Carabaño, 2000), sólo hemos analizado 6 MRA cuya ecuación general es:

$$y_{ijkl} = RFC_i + EE_j + \sum_{m=1}^{4} \beta_{jm} X_{klm} + u_k + \sum_{m=1}^{r} \alpha_{km} Z_{1,klm} + p_k + \sum_{m=1}^{s} \omega_{km} Z_{2,klm} + e_{ijkl} \qquad (1)$$

donde RFC_i es el grupo de comparación rebaño-fecha de control *i*, EE_j es el factor edad-época de parto *j*, β_{jm} es el coeficiente de regresión fijo *m* anidado a EE_j que se asocia a la covariable X_{klm} definida por la función lineal de Ali-Schaeffer (1987). u_k es el término independiente (TI) del efecto aditivo del animal *k*, p_k es el TI del efecto ambiental permanente de la vaca *k*, α_{km} es el coeficiente *m* de regresión aleatorio anidado a u_k, ω_{km} es el coeficiente de regresión aleatorio *m* anidado a p_k, y $Z_{1,klm}$ y $Z_{2,klm}$ son covariables dependientes del tiempo, definidas por funciones lineales. Los MRA utilizados difieren entre sí únicamente en las funciones que definen estas covariables. Se utilizaron las funciones lactacionales de Ali-Schaeffer (1987) para el modelo MRA-A y Wilmink (1987) para el modelo MRA-W, y Polinomios Ortogonales de Legendre (Kirkpatrick y Heckman, 1989). Se utilizaron los 4 modelos de Legendre siguientes: $L_a(3) + L_p(3) = A3$; $L_a(3) + L_p(5) = C3$; $L_a(5) + L_p(5) = C5$; $L_a(3) + L_p(6) = D$, donde en $L_a(n)$ y $L_p(m)$, *n* y *m* representan el orden de ajuste sobre la parte aditiva y permanente, respectivamente.

La *distribución condicional de los datos dados los parámetros* de los modelos especificados en la ecuación general (1) y las *distribuciones a priori* asumidas son las siguientes:

$$\mathbf{y/b,u,p,}\Sigma_u,\Sigma_p,\sigma^2_{e1},\sigma^2_{e2},\sigma^2_{e3} \sim \mathbf{NMV(Xb + Z_x u + W_x p\ ,\ R)} \text{ con } \mathbf{R} = \text{diag}\{\sigma^2_{ei\ (i=1,\ldots,3)}\}$$

$$\mathbf{b} \sim \mathbf{NMV(0,I}\sigma^2_b\mathbf{)} \qquad \text{con } \sigma^2_b = 10^6$$

$$\mathbf{u/}\Sigma_u, \mathbf{A} \sim \mathbf{NMV(0,G)} \qquad \text{con } \mathbf{G} = \Sigma_u \otimes \mathbf{A}$$

$$\mathbf{p/}\Sigma_p, \sim \mathbf{NMV(0,P)} \qquad \text{con } \mathbf{P} = \Sigma_p \otimes \mathbf{I}$$

$$\sigma^2_{ei}/\upsilon_{ei}, s^2_{ei} \sim \chi^{-2}\ (\upsilon_{ei},\ \upsilon_{ei}s^2_{ei}) \text{ con } i = 1,\ldots,3$$

$$\Sigma_u\ /\upsilon_u, \mathbf{S^2_u} \sim \mathbf{W^{-1}}\ (\upsilon_u,\ \upsilon_u \mathbf{S^2_u})$$

$$\Sigma_p\ /\upsilon_p, \mathbf{S^2_p} \sim \mathbf{W^{-1}}\ (\upsilon_p,\ \upsilon_p \mathbf{S^2_p})$$

donde υ_x y $\mathbf{S^2_x}$ son, respectivamente, los grados de libertad y el factor de escala de la distribución correspondiente. Se ha asignado un valor de 4 para υ_{ei} en todos los modelos, y un valor igual al número de orden de ajuste en el modelo para los parámetros υ_u y υ_p, reflejando un bajo conocimiento de la información a priori. Los valores para los escalares s^2_{ei} (i= 1,...,3), y para las matrices $\mathbf{S^2_u}$ y $\mathbf{S^2_p}$ fueron obtenidos de estimas REML previas (López-Romero, Carabaño, 2000), excepto para el MRA-A que se obtuvieron de Rekaya (1999). A partir de la *distribución posterior conjunta* se derivaron las

distribuciones condicionales completas necesarias para aplicar el algoritmo del muestreo de Gibbs siguiendo a Sorensen (1996). Las distribuciones condicionales obtenidas son:

$\mathbf{b/y,u,p,}\Sigma_u,\Sigma_p,\sigma^2_{el\ (l=1,...,3)} \sim \mathbf{NMV(}\hat{b}\mathbf{\ , (X'R^{-1}X + I}\sigma^{-2}_b\mathbf{\ )^{-1})}$ con $\hat{b} = \mathbf{(X'R^{-1}X + I}\sigma^{-2}_b\mathbf{)^{-1}X'R^{-1}(y - Z_xu - W_xp)}$

$\mathbf{u/y,b,p,}\Sigma_u,\Sigma_p,\sigma^2_{el\ (l=1,...,3)} \sim \mathbf{NMV(}\hat{u}\mathbf{\ ,(Z'R^{-1}Z + G^{-1})^{-1})}$, con $\hat{u} = \mathbf{(Z'R^{-1}Z + G^{-1})^{-1}Z'R^{-1}(y-Xb - W_xp)}$

$\mathbf{p/\ y,b,u,}\Sigma_u,\Sigma_p,\sigma^2_{el\ (l=1,...,3)} \sim \mathbf{NMV(}\hat{p}\mathbf{\ , (W'R^{-1}W + P^{-1})^{-1})}$, con $\hat{p} = \mathbf{(W'R^{-1}W + P^{-1})^{-1}\ W'R^{-1}(y- Xb - Z_x\ u)}$

$\sigma^2_{ei}\mathbf{/y,b,u,p,}\ \Sigma_u,\Sigma_p,\sigma^2_{ej(j\neq i)} \sim \chi^{-2}\ (N_i + \upsilon_{ei},\ \upsilon_{ei}S^2_{ei} + \mathbf{e_l'e_l})$ para i=1,...,3, siendo N_i el número de PDC contabilizados en el tramo de lactación asignado a la varianza σ^2_{ei}, y $\mathbf{e_l'e_l}$ la suma de residuos al cuadrado correspondiente al mismo tramo de lactación.

Σ_u **/ y,b,u,p,**$\Sigma_p,\sigma^2_{e1},\sigma^2_{e2},\sigma^2_{e3} \sim \mathbf{W^{-1}\ (}q + \upsilon_u,\ \mathbf{U'A^{-1}U} + \upsilon_u\mathbf{S^2_u)}$, donde q es el número de animales en genealogía, y $\mathbf{U}_{(q\ x\ r+1)}$ es la matriz que contiene los $r+1$ vectores columna $\mathbf{u}_i$, con las soluciones del coeficiente de regresión aleatorio i para los q animales: $\mathbf{U = (u_1, ..., u_i, ..., u_{r+1})}$

Σ_p **/ y,b,u,p,**$\Sigma_u,\sigma^2_{e1},\sigma^2_{e2},\sigma^2_{e3} \sim \mathbf{W^{-1}\ (}c + \upsilon_p,\ \mathbf{P'P} + \upsilon_p\mathbf{S^2_p)}$. donde c es el número de animales con dato y $\mathbf{P}$ es la matriz que contiene las soluciones para los $s+1$ coeficientes de regresión aleatorios del permanente.

La *comparación de modelos* se ha basado en la utilización de *Factores de Bayes*. Además, se estudió la forma en la que los diferentes modelos predecían las varianzas aditiva y permanente diaria y las correlaciones genéticas a lo largo de la lactación. *El Factor de Bayes (FB)* de un modelo M_1 frente a otro M_2, dados los datos $\mathbf{y}$, se define formalmente como la razón de los *"odds"* a posteriori entre los *"odds"* a priori.(Wasserman, 1997, Kass y Raftery, 1995, Raftery, 1998,Gelfand, 1998). (*Odd es la razón de probabilidad de un suceso frente a su complementario)*

$$FB = \frac{\pi(M_1 / y)/\pi(M_2 / y\ )}{\pi(M_1)/\pi(M_2)}$$,donde $\pi(M_i / y)$ y $\pi(M_i)$ son, respectivamente, las distribuciones posterior y a priori del modelo M_i.

El FB se puede interpretar como el peso relativo de la evidencia de un modelo frente al otro suministrada por los datos (Gelfand, 1998) y se calcula como el cociente entre las densidades marginales de los datos (o verosimilitudes marginales) para cada modelo (Gamerman, 1997, Kass y Raftery, 1995, Gelfand, 1998). Un aspecto importante en la comparación de modelos es la evaluación de estas densidades marginales, densidades que se calculan integrando sobre todo el espacio paramétrico (Kass y Raftery, 1995), y que no son más que las constantes de integración de las distribuciones posteriores (Gamerman, 1995) de los parámetros Φ dados los datos en cada uno de los modelos. La densidad marginal de los datos bajo el modelo M_i, es:

$$f(y / M_i) = \int_{\Phi} f(y / \Phi_i, M_i)\pi(\Phi_i / M_i)d\Phi_i$$

Esta expresión no se puede evaluar analíticamente debiéndose utilizar métodos de aproximación. El estimador que hemos utilizado, se basa en el cálculo de la media harmónica de los valores de la verosimilitud en cada iteración.

$$\hat{f}(y / M_i) = \left[\frac{1}{H}\sum_{i=1}^{H}\frac{1}{f(y/\Phi_i)}\right]^{-1}$$, donde H es el número de iteraciones una vez superado el calentamiento, y $f(y/\Phi_i)$ es la densidad de los datos dados los parámetros (o verosimilitud) evaluada en la iteración i como: $f(y/\Phi_i) = \prod_{j=1}^{N}\frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2_{ei}}}\exp(-\frac{1}{2\sigma^2_{ei}}\sum_{j=1}^{N}e_i^2)$, siendo N el número total de datos, y e_i^2 el cuadrado del residuo Este estimador converge al correcto valor de $f(y/M_i)$ *si* H tiende a infinito. (Newton y Raftery, 1994).

Resultados y Discusión

Las inferencias se han realizado a partir de las *distribuciones marginales posteriores* de cada uno de los parámetros de interés, a partir del algoritmo de muestreo de Gibbs. El periodo de calentamiento que se estimo como correcto para considerar que las cadenas habían convergido a la distribución estacionaria, se obtuvo a partir de la visualización de sus trazas. El número de iteraciones totales y salto entre muestras para la obtención de las distribuciones marginales, se basó en el criterio de Raftery y Lewis (R&L) que se incluye en el programa CODA (1995). No obstante, decidimos ser conservadores en cuanto al numero total de iteraciones, y aumentamos hasta el especificado en la

Tabla 1, de forma que se asegurase que se visitan todas las regiones del espacio paramétrico en el proceso de muestreo.

Tabla 1: Descripción de los parámetros descriptivos de las cadenas de Markov, Densidad Marginal de los datos y VR para los distintos modelos

Modelo M_k	Salto	Calentamiento		Iteraciones criterio Raftery &Lewis	Iter. totales efectuadas	Ln[f(y/M_k)]	varianza residual		
							Tramo en días		
		R&L	traza				5-75	76-265	266-335
A3	11	682	10.000	83.655	140.000	-4.906.278.388	15,5363	10,0677	9,2462
C3	12	564	18.000	69.600	100.000	-4.798.162.364	13,0874	9,3079	8,3045
C5	12	132	10.000	16.320	100.000	-4.796.109.392	13.1235	9,4166	8.3856
D3	12	468	10.000	57.552	140.000	-4.781.651.620	12,6760	9,3079	8,2951
MRA-W	19	532	10.000	64.144	100.000	-5.663.074.763	21,9477	17,1151	28,0783
A3	11	431	10.000	56.541	100.000	-4.912.407.781	10,9055		
C3	10	321	10.000	50.211	100.000	-4.781.258.021	9,7812		
D3	10	380	10.000	46.960	100.000	-4.770.190.572	9,5803		

El cálculo del logaritmo neperiano de la densidad marginal de los datos, Ln[*f(y/M$_i$)*], se efectuó a partir de la iteración 40.000 para todos los modelos que convergieron a la distribución de equilibrio. Para el MRA-A se lanzaron dos cadenas desde puntos distintos, no alcanzando ninguna de las dos cadenas la convergencia tras 200.000 y 480.000 iteraciones. También se detectaron problemas de convergencia en el MRA-A en análisis previos con métodos de máxima verosimilitud. El modelo C5, de igual número de parámetros que el MRA-A, convergió rápidamente por tratarse de polinomios ortogonales, que hacen que se disminuya la correlación entre muestras consecutivas acelerando la convergencia de la cadena de Markov. Se realizó un análisis de sensibilidad sobre los modelos A3 y C5, utilizándose distintas matrices en el factor de escala de la distribución a priori Wishart invertida para Σ_u y Σ_p. En ambos casos se obtuvieron medias posteriores similares, siendo las varianzas aditivas y permanentes diarias que se obtienen con ellas, prácticamente coincidentes excepto en los extremos. Una cosa que podría explicar esto es un problema de *"ill-conditioning"* sobre el problema de calcular funciones de covarianza, de tal forma que pequeñas diferencias en los valores de entrada de Σ_u y Σ_p, originan grandes diferencias en las varianzas diarias. Las diferencias observadas en los extremos también se podrían explicar por una falta de información en esas zonas. Estas diferencias fueron más manifiestas en el modelo de mayor número de parámetros, C5. No obstante, se puede concluir que la información a priori utilizada no condiciona el resultado final obtenido, recayendo todo el peso sobre la información que aportan los datos.

En la Tabla 1, se presentan los logaritmos neperianos de las densidades marginales de los datos para los distintos modelos, Ln[f(y/M_k)], siendo el Ln(BF)= Ln[f(y/M_1)]- Ln[f(y/M_2)]. En todos los casos el Ln(BF) es mayor de 150, significando una *evidencia muy fuerte* de M_1 sobre M_2 en la escala de Jeffreys (Kass y Raftery, 1995). El Ln[f(y/M_k) también puede ser utilizado para establecer un ranking de modelos, siendo el peor de los analizados el MRA-w y el mejor el D3. Estos resultados coinciden con los obtenidos por REML (López-Romero y Carabaño, 2000). Este criterio también se ve apoyado por el hecho de verse reducida la VR según se asciende en el ranking de modelos (Tabla 1). También se observó una fuerte deficiencia en las predicciones de las correlaciones genéticas en los modelos C5, y MRA-w, al igual que ocurrió en análisis previos (López-Romero y Carabaño, 2000). Se hizo un análisis adicional para los modelos A3, C3 y D3 manteniendo la VR constante, observándose un mejor comportamiento para los modelos de VR heterogénea sólo en el caso del A3. Se necesitan mas estudios al respecto de la modelización de la VR.

Referencias

Ali, T.T. , Schaeffer, L.R. , 1987. J. Anim. Sci. 67:637

Best, N. G. ,Cowles, M. K., Vines, S. K., 1995. CODA: Convergence Diagnostics and Output Analysis Software for Gibbs Sampler Output: Version 3.0. Technical report, Biostatistics Unit- MRC, Cambridge, UK.

Gamerman, D. 1997. Markov Chain Monte Carlo .Chapman y Hall

Gelfand, A.E., 1996. Gilks, W.R. et al (Eds.),Markov Chain Monte Carlo in Practice. Champan y Hall -145-162

Kass, R. E., Raftery, A. E. 1995.. Journal of the American Statistical Association. Vol 90, No 30, 773.

Kirkpatrick, M., Heckman,N.,1989.. J. Math. Biol. 27:429.

Newton, M. A., Raftery, A. E., 1994. J. R. Statis. Soc. B 56, No 1:3

López-Romero, P., Carabaño, M.J., 2001- ITEA, Vol. 96A nº 3.(Enviado)

Raftery, A.E., 1996 Gilks, W.R. et al (Eds.),Markov Chain Monte Carlo in Practice. Champan y Hall-163,187

Rekaya, R., M.J. Carabaño, M.A. Toro. 1999. Livest. Prod. Sci. 57:203

Sorensen, D.1996. Internal report no. 82 from the Danish Institute of Animal Science.

Wilmink J.B.M., 1987.. Livest. Prod. Sci. 16:335

Wasserman, L., 1997. Bayesian Model Selection and Model Averaging. Presented at the Mathematical Psycholgy Sympsosium on "Methods for Model Selection" held on August 3-4 1997 in Bloommington, Indiana.

EFECTO DE LOS GRUPOS GENÉTICOS EN LA ESTIMA DE PARÁMETROS GENÉTICOS DE LA POBLACIÓN DE LIMUSÍN DE ESPAÑA.

A.Moreno [1], C. Díaz [2] y M. J. Carabaño [2]
[1] Federación Española de Criadores de Limusín
[2] Dpto. de Mejora Genética y Biotecnología. INIA. Apdo. 8111. 28080 Madrid

INTRODUCCIÓN

La estima de varianzas genéticas cuando la población base ha sido seleccionada puede estar sesgada por selección de los ancestros si no se dispone de la información completa del pedigrí y de los datos en los cuales ésta está basada. El conocimiento de la relación de parentesco entre los animales de la base puede eliminar parte del sesgo aunque no se conozcan los datos de la base (Van der Werf y Boer, 1990). Bajo un modelo condicional, asumiendo los animales de la base como fijos, Van der Werf (1992) obtiene estimas de componentes de varianza no sesgadas por la selección de los animales de la base pero se introduce un nuevo sesgo si la selección continúa. Un problema añadido viene del hecho de que los animales de la base además de ser animales seleccionados lo haya sido en periodos de tiempo distinto. Pieramati y Van Vleck (1993) propusieron utilizar una estrategia de grupos genéticos para modelizar el efecto de la selección sobre la varianza aditiva.

La población de Limusín de España se ha generado a partir de múltiples importaciones de animales de raza Limusín francesa que cuenta con un Esquema de Selección sólido y eficiente desde la década de los 60. La importación de animales se ha realizado en diferentes períodos de tiempo, con lo cual, los animales que constituyen parte de la base responde a períodos de selección distintos. Aunque el Libro Genealógico consta de unos 25000 registros la disponibilidad de genealogía es desequilibrada, para unos animales uno se puede remontar ocho generaciones mientras que para otros no es así. Por otra parte, no se dispone de los datos franceses en los cuales están basadas la mayoría de las decisiones de selección.

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de incluir grupos genéticos en la estima de los parámetros genéticos para un carácter con influencia materna como es el Peso a los 210 días en la población de Limusín de España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las estimas REML de componentes de varianza fueron obtenidas mediante el programa VCE (Groneveld, 1998) para el carácter peso ajustado a los 210 días de edad con información del control de rendimientos de Limusín en España. Se utilizaron diferentes modelos animales incluyendo únicamente efecto directo (M1), y efecto directo, materno y ambiental permanente (M3). Para los dos modelos la estimación se realizó incluyendo o no grupos genéticos directos (M1) y directos y maternos (M3). El número de animales con dato fue 3055 y el número de animales en genealogía fue de 6535. Todos los animales con dato son españoles, en genealogía el número de animales españoles fue de 5117 y el número de animales franceses fue de 1418. Los efectos fijos incluidos en los modelo fueron: grupo de comparación (344 niveles), sexo y edad de la madre al parto (4 niveles). Los grupos genéticos se definieron bajo diferentes estrategias. En primer lugar asignamos el número de generación a todos los animales de la genealogía, el número máximo de generaciones en genealogía fue de ocho. Los animales con dato constituyen la generación ocho, sus padres pertenecían a la generación siete, y así sucesivamente hasta llegar a los ancestros más alejados de los datos que constituyen la generación uno. La estrategia 1 (E1) consistió en asignar los animales a grupos genéticos a partir de la generación, vía de selección y origen (español o francés). Se definieron un total de 54 grupos. En la estrategia 2 (E2) los grupos se definen según el tipo de vía de selección y generación, resultando en un total de 27 grupos. Para la estrategia 3 (E3) los grupos se constituyen según el tipo de vía y generación, agrupando algunas generaciones para los machos 1-4, 5-6, 7-8 y para hembras 1-5 y 6-7. Con un total de 10 grupos. La estrategia 4 (E4) fue similar a la 3, pero prescindiendo del tipo de vía con lo cual el número de grupos se redujo a 5. En una aproximación distinta, se eliminó la genealogía más allá de los abuelos de animales con

dato con el objeto de establecer la población base en una misma generación para todos los animales. De esta forma, el archivo de genealogía pasó a tener 6242 animales. Sobre esta estructura de información se definieron los grupos en función del sexo del progenitor y la generación, dado que dentro de la genealogía existían abuelos desconocidos. Esto constituyó la estrategia 5 (E5) y resultó en la definición de 4 grupos. En la estrategia 6 (E6) se definieron los grupos según el tipo de vía agrupando las generaciones vía padre. Se obtuvieron un total de 6 grupos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo E1 y E2 el número de grupos obtenidos era suficientemente numeroso como para que la información disponible para estimar parte de ellos fuera muy escasa. Además se producían combinaciones lineales adicionales a las esperadas y el efecto grupo no pudo ser 'estimado' para ninguno de los modelos utilizados. Quass (1988) indica que para un número grande de grupos con poca información el efecto grupo podría confundirse con otros efecto fijos y las diferencias entre valores genéticos podrían no ser invariantes. Bajo la E3 se obtuvieron soluciones para los grupos genéticos utilizando el modelo M1, pero plantea problemas de estimabilidad cuando se incluye el efecto materno en el modelo (M3). Van Vleck (1990) propone la asignación de animales a grupos sin distinguir el tipo de vía y considerando únicamente las dos generaciones de ancestros más próximas a los animales con dato. Los resultados que presentaremos hacen únicamente referencia a las estrategias 4, 5 y 6 bajo los dos modelos.

La Tabla 1 muestra las estimas de componentes de varianza utilizando toda la genealogía completa (C) sin y con los grupos genéticos directos (M1-C,) y directos y maternos (M3-C) bajo la E4.

Tabla 1. Estima de componentes de varianza para diferentes modelos animales , utilizando la genealogía completa (C) , sin incluir grupos genéticos y con grupos genéticos bajo la estrategia 4

	Sin grupos genéticos					Con grupos genéticos (E4)				
modelo	σ_d^2	σ_m^2	$\sigma_{d\text{-}m}$	σ_{ep}^2	σ_e^2	σ_d^2	σ_m^2	$\sigma_{d\text{-}m}$	σ_{ep}^2	σ_e^2
M1-C	684,9	-	-	-	467,2	641,7	-	-	-	472,3
M3-C	295,9	260,9	-173,8	79,8	582,6	260,4	252,4	-154,7	77,1	602,0

(M1-C) modelo animal; (M3-C) modelo animal con efecto materno y ambiental permanente.

Tabla 2. Estima de las varianzas directa, materna, covarianza directa-materna y varianza ambiental permanente bajo distintos modelos, utilizando la genealogía reducida (R), sin grupos y con grupos genéticos bajo las estrategias 5 y 6 .

	Sin grupos genéticos					Con grupos genéticos (E5)					Con grupos genéticos (E6)				
modelo	σ_d^2	σ_m^2	$\sigma_{d\text{-}m}$	σ_{ep}^2	σ_e^2	σ_d^2	σ_m^2	$\sigma_{d\text{-}m}$	σ_{ep}^2	σ_e^2	σ_d^2	σ_m^2	$\sigma_{d\text{-}m}$	σ_{ep}^2	σ_e^2
M1-R	301,0	-	-	-	737,3	642,8	-	-	-	471,4	290,9	-	-	-	744,7
M3-R	198,0	46,2	-76,3	173,6	639,4	294,3	274,6	-183,4	74,8	585,5	180,0	48,1	-74,3	176,4	648,1

(M1-R) modelo animal; (M3-R) modelo animal con efecto materno y ambiental permanente

Los resultados obtenidos para estimas de componentes de varianza (Tabla1) con los diferentes modelos utilizados siguen el mismo patrón de comportamiento que los obtenidos por Hernández y col. (1995) y Quintanilla y col.(1995). Estos resultados parecen indicar que en el modelo M1 al ignoran las posibles fuentes de variabilidad ajenas al animal y al propio error, la varianza aditiva directa está sobreestimada. Parece claro que el carácter requiere de una modelización en la que se incluya la componente materna. Incluir el efecto materno en el modelo M3-C supone una fuerte reducción en la estima de la varianza aditiva directa respecto al modelo M1-C.

Cuando los grupos genéticos se definen según la estrategia 4 las estimas de componentes de varianza genética disminuyen en los modelos que incluyen grupos genéticos respecto a los modelos sin grupos. La mayor reducción se observa en la varianza directa (12 %) y en la covarianza directa-materna (11%) bajo el modelo M3-C, aunque la varianza materna prácticamente no se modificó (3%). Bajo el modelo M1-C, la inclusión de grupos supuso una reducción del 6% de la varianza directa. Pieramati y Van Vleck (1993) mediante un estudio de simulación obtuvieron que para el caso de que la población base fuera un población seleccionada la modelización del proceso de selección mediante la incorporación de grupos genéticos permitía obtener una estima de la varianza genética que era la adecuada a la población de referencia. Por el contrario, el ignorar los grupos genéticos o definirlos

aleatoriamente de manera que no reflejaran el proceso de selección aplicado sobre la población simulada, se traducía en una sobreestima de la varianza genética. A la vista de los resultados presentados en la Tabla 1, se podría interpretar que la definición de los grupos genéticos que se ha hecho bajo E4 reflejaría la selección aplicada sobre la componente directa del carácter y que dicha selección no ha actuado sobre la componente materna ó que la estrategia no modeliza la selección ejercida sobre dicha componente.

La Tabla 2 presenta los componentes de varianza estimados utilizando la genealogía reducida sin grupos genéticos y con grupos bajo las estrategias 5 y 6. El efecto de eliminar parte de la genealogía es notable suponiendo una reducción drástica en la estima de la/las componentes genéticas bajo los dos modelos en ausencia de grupos genéticos. Al eliminar parte de la genealogía la población base queda definida prácticamente por los abuelos y/o bisabuelos y la varianza que estima el modelo es fundamentalmente la de esta generación que obviamente debería ser menor que la varianza inicial en presencia de selección direccional por el efecto del establecimiento de covarianza entre animales, consanguinidad y desequilibrio gamético (van der Werff y de Boer, 1990) o bien puede que la estructura de la información se altere de tal manera que no permita separar la/las componente/es genética/as del residuo. Por otra parte, la implementación de la E5 parece paliar el efecto de la carencia de genealogía aunque no la E6. En el caso de que se disponga de genealogía los grupos genéticos podrían atenuar el efecto de la selección sobre la población base sin embargo, cuando la genealogía es escasa parece suplir únicamente el efecto de la genealogía faltante.

Las estimas de heredabilidad directa (h_d^2) heredabilidad materna (h_m^2) y correlación genética directo- materna ($r_{d\text{-}m}$) se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Estimas de heredabilidades directa, materna y correlación genética directo-materna

Modelo	h_d^2	h_m^2	$r_{d\text{-}m}$
Limusín Frances (Shi y col., 1993)	0,26	0,13	-0,24
M3-C Sin grupos genéticos	0,28	0,25	-0,62
M3-R Sin grupos genéticos	0,20	0,05	-0,80
M3-C Con grupos genéticos E4	0,25	0,24	-0,60
M3-R Con grupos genéticos E5	0,28	0,26	-0,65
M3-R Con grupos genéticos E6	0,18	0,05	-0,80

La estima de parámetros genéticos bajo un modelo animal con efecto materno y ambiental permanente se ve poco afectada al incluir los grupos genéticos en el modelo cuando la genealogía es completa. La eliminación de la genealogía tiene un efecto importante sobre la estimación de los parámetros. La h_d^2 disminuye un 29% , la h^2_m disminuye un 80% mientras que la $r_{d\text{-}m}$ aumenta en valor absoluto un 29% comparando los modelos que no incluyen grupos genéticos. Sí se observa que la inclusión de grupos genéticos bajo E5 al reducir la genealogía palia el efecto de la falta de dicha genealogía de manera que según se observa en la Tabla 3 las estimas de heredabilidad directa y materna así como la correlación genética son de la misma magnitud. Por otra parte, la h_d^2 es muy similar a la obtenida en la población francesa, pero la h^2_m fue aproximadamente el doble de la de la población francesa y la $r_{d\text{-}m}$ fue casi el triple de la obtenida en esa población. Los resultados presentados son preliminares y requieren de un estudio de simulación que permita discernir entre el problema de estructura de información y el efecto de la selección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Groneveld E. 1998. VCE4 (V1-3)

Hernández D., Díaz C., Alenda R. 1995. ITEA. Tomo 1, vol. 16: 221-223.

Pieramati C. and Van Vleck L.D.. 1993. J. Anim. Sci. 71: 66-70.

Quintanilla R., Pujol M.R., Piedrafita J. 1995. ITEA. Tomo 1, vol. 16: 230-232.

Quass R.L. 1988. J. Dairy Sci. 71: 1338-1345.

Shi M.J., Lalöe D., Ménissier F., Renand G. 1993. Genet. Sel. Evol. 25: 177-189.

Van der Werf, J.H.J. 1992. J. Anim. Sci. 70: 1068-1076.

Van der Werf, J.H.J. and de Boer, I.J.M. 1990. J. Anim. Sci. 68: 3124-3132.

Van Vleck L. 1990. J. Anim. Sci. 68: 3990-4013.

RELACIONES GENÉTICAS ENTRE RAZAS ASNALES ESPAÑOLAS A PARTIR DEL ANÁLISIS DE MARCADORES MICROSATÉLITE

J.A. Aranguren-Méndez [a], J. Jordana [a] y M. Gómez [b]

[a] Unitat de Genètica i Millora Animal. Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra, Barcelona.
[b] Servicio de Ganadería. Diputación Foral de Bizkaia, 48014-Bilbao.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años la conservación de razas y/o poblaciones minoritarias ha tomado un gran auge, debido principalmente a la concienciación del hombre en la necesidad de preservar dichos recursos genéticos. La importancia de la biodiversidad quedó patente en la cumbre de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo, celebrada en Río de Janeiro (1992), estableciéndose la necesidad de estudiar los diferentes componentes de la diversidad biológica. La importancia e interés de la preservación se podría resumir en cuatro aspectos fundamentales: genético-productivos, científicos, histórico-culturales y ecológico-ambientales (Simon, 1984; Anonymous, 1992).

De las razas asnales españolas (*Andaluza, Asno de las Encartaciones, Catalana, Mallorquina y Zamorano-Leonesa*), se puede indicar que se encuentran catalogadas, según criterios de la FAO, en el estatus de razas críticas en inminente peligro de extinción, ya que atraviesan actualmente una regresión racial que conllevaría a su inevitable desaparición de no tomarse medidas urgentes de conservación (Jordana y Folch, 2000). Sus tamaños censales se han visto reducidos en un 80% desde la década de los 60 hasta nuestros días. El número efectivo de hembras reproductoras oscila entre 100 y 200 (Com. Pers. Asociaciones de Criadores de Asnos; Jordana y Folch, 1996), por lo que, sin ningún tipo de acción serían inevitables las constantes pérdidas de variabilidad genética en generaciones sucesivas (Bodó, 1992).

La caracterización genética de las razas, a partir del análisis de marcadores de ADN del tipo microsatélite, permitirá realizar estudios de estructura poblacional y conocer las relaciones filogenéticas existentes entre las mismas. Dicha caracterización será básica para lograr alcanzar uno de los objetivos fundamentales de cualquier programa de conservación, como es, el mantenimiento de la máxima cantidad de diversidad genética posible.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 513 muestras sanguíneas de asnos españoles, distribuidos de la siguiente manera: 87 Andaluces (AND), 74 Asnos de las Encartaciones (ENC), 140 Catalanes (CAT), 104 Mallorquines (MALL) y 108 de la raza Zamorano-Leonesa (ZAM). Adicionalmente, 9 asnos de raza Marroquí fueron utilizados como genuinos representantes del *Equus asinus africanus,* y 24 caballos de la raza Merens fueron usados como población "outgroup". El ADN se obtuvo según protocolo estándar de extracción en sangre de Ausebel *et al.*(1987).

Los 15 marcadores microsatélites utilizados fueron: ASB2, AHT4, AHT5, HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7, HTG10, HTG15 y VHL20. Se amplificaron, utilizando "primers" marcados fluorescentemente, en tres múltiplex de 5 marcadores cada una, con el fin de evitar solapamiento entre los productos originados de la PCR. Las múltiplex se llevaron a cabo en una reacción final de 15 µl y se amplificaron en un termociclador 9700 (Perkin Elmer), a 95ºC durante 10 min., seguido de 30 ciclos que comprendían 95ºC por 30 seg., 60ºC por 30 seg. y 72ºC por 60 seg., y una extensión final de 60 min. a 72ºC. Los productos de la PCR se analizaron en un secuenciador automático de electroforesis capilar

(ABI 310), e interpretados posteriormente mediante el programa GENESCAN, utilizando el marcador de tamaños ROX 350.

Para el análisis de la variabilidad genética se calcularon las frecuencias alélicas, número medio de alelos por locus y valores de heterocigosidad (observada y esperada), utilizando el programa BIOSYS 2 (Swofford and Selander, 1999). Para el análisis de la subestructuración poblacional, mediante los F-estadísticos (F_{IS}, F_{IT} y F_{ST}), se utilizó el paquete FSTAT (Goudet, 2000). La distancia genética D_A (Nei et al, 1983) y el método de agrupamiento del algoritmo NJ (neighbour-joining), fueron de elección para la confección del dendrograma, lo cual fue llevado a cabo utilizando el programa DISPAN (Ota, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 15 *loci* microsatélites (aislados de caballo) amplificaron correctamente en asnos, con la excepción de ASB2. Los 14 que amplificaron fueron todos polimórficos, con la excepción de HMS1 (alelo 165 pb, para todas las razas). La variabilidad genética detectada por razas, se puede observar en la Tabla 1. Se obtuvieron como promedio 7,2 alelos por *locus*, aunque tan sólo 4,5 de éstos fueron comunes para las 5 razas bajo estudio. El *locus* con mayor número de alelos fue el AHT4, con 15 alelos, mientras que el que mostró menos resultó ser el HMS5 con 3 alelos por raza. El test ANOVA no mostró diferencias significativas para el número medio de alelos por raza, oscilando dichos valores entre 7,0 y 7,5 para las razas Andaluza y Mallorquina, respectivamente. Resultados similares se obtuvieron con las heterocigosidades, que oscilaron entre 0,637 y 0,684.

Tabla 1. Estadísticos de variabilidad genética para las razas asnales españolas.

Raza	Número de individuos	No. Medio de alelos por locus	Heterocigosis	
			Observada	Esperada
Andaluza	87	7.0 ± 1.0	0.532 ± 0.052	0.679 ± 0.034
Catalana	140	7.1 ± 1.0	0.528 ± 0.062	0.663 ± 0.055
Mallorquina	104	7.5 ± 0.9	0.570 ± 0.063	0.637 ± 0.054
Encartaciones	74	7.4 ± 1.0	0.564 ± 0.066	0.646 ± 0.059
Zamorano-Leonesa	108	7.3 ± 1.1	0.539 ± 0.058	0.684 ± 0.044
Media		7.2 ± 1.0	0.546 ± 0.060	0.654 ± 0.048

Los F-estadísticos se muestran en la Tabla 2. En la misma se puede apreciar que cerca del 4% del total de la variación genética se puede explicar por las diferencias entre razas, correspondiendo el 96% restante a diferencias entre individuos. Como promedio, las razas mostraron un 17,8% de déficit de heterocigotos, oscilando entre el 11,2% para la raza Mallorquina y el 23,2% para la Andaluza. Estos valores nos muestran un elevado estado de déficit, característico y principal problema de las poblaciones de censos reducidos. Asimismo, debemos tener en cuenta que pueden ser varios los fenómenos biológicos causantes de este déficit, tales como: que el locus este asociado a algún carácter de interés selectivo (efecto de arrastre), presencia de alelos nulos, subestructura de la población (efecto Wahlund) y el apareamiento entre parientes (consanguinidad). Alguno (principalmente la consanguinidad) o la combinación de algunos de ellos podrían estar actuando en estas poblaciones.

Tabla 2. Análisis de la estructura poblacional mediante los F-estadísticos

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
AHT4	0.074 (0.030)***	0.107 (0.032)***	0.036 (0.020)***
AHT5	0.163 (0.034)***	0.201 (0.040)***	0.045 (0.010)***
HMS2	0.147 (0.032)***	0.159 (0.032)***	0.014 (0.006)***
HMS3	0.031 (0.042)	0.069 (0.045)**	0.039 (0.030)***
HMS5	- 0.032 (0.038)	0.105 (0.098)**	0.136 (0.071)***
HMS6	0.254 (0.067)***	0.286 (0.074)***	0.042 (0.029)***
HMS7	0.481 (0.065)***	0.496 (0.069)***	0.028 (0.022)***
HTG4	0.777 (0.046)***	0.791 (0.044)***	0.062 (0.044)***
HTG6	0.201 (0.064)***	0.258 (0.073)***	0.070 (0.020)***
HTG7	0.126 (0.039)***	0.155 (0.049)***	0.033 (0.017)***
HTG10	0.090 (0.019)***	0.126 (0.026)***	0.039 (0.013)***
HTG15	0.063 (0.030)**	0.078 (0.019)***	0.017 (0.012)***
VHL20	0.060 (0.090)	0.116 (0.123)***	0.057 (0.038)***
Media estimada	0.178 (0.047)***	0.211 (0.046)***	0.041 (0.005)***

**P< 0.01, *** P<0.001, a partir de test permutacionales mediante el programa FSTAT

La Figura 1 muestra las relaciones entre las razas asnales españolas. Podemos apreciar que las razas CAT y MALL forman un grupo muy consistente, así como las cuatro razas de capa negra del Norte de España (77% de confianza), descendientes del *E. a. europeus*. La raza AND ocupa una posición intermedia entre este grupo y el asno de Marruecos, apoyando así la hipótesis acerca de su posible origen africano (*E. a. africanus*), aunque las relaciones no están muy claras y estudios más específicos, como los del ADN mitocondrial, podrían ser necesarios para confirmar estas evidencias.

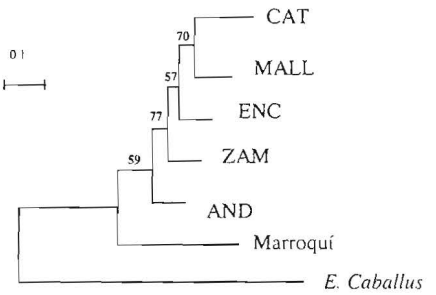


Figura 1. Dendrograma con D_A y NJ en las razas asnales españolas. (Los valores de las bifurcaciones representan el % de replicaciones bootstrap).

REFERENCIAS

Anonymous. (1992).The management of global animal genetic resources. Hodges J. (ed.), FAO, Rome, pp. 1-24.

Ausubel F. M., Brent R., Kingston R. E., Moore D. D., Seidman G.G., Smith J.A., Struhl K., (Eds.). (1987). Current Protocols in Molecular Biology. Green pub. ass. and Wiley-Interscience, NY.

Bodó I. (1992). The management of global animal genetic resources. Hodges J. (ed.), FAO, Rome, pp. 91-105.

Jordana J. and Folch P. (1996). J. Equine Vet. Sci., 16, 436-441.

Jordana J. y Folch P. (2000). Catalunya rural i agrària. 63, 33-38.

Goudet J. (2000). FSTAT(version 2.9.1). http://www.unil.ch/izea/softwares/fstat.html.

Nei M., Tajima F., Tateno T. (1983). J. Mol. Evol., 19, 153-170.

Ota T. (1993). DISPAN software. Genetic distance and phylogenetic analysis. University Park, PA.

Simon, D. L. (1984). Livestock Production Science. 11, 23-36.

Swofford D.L. and Selander R. B. (1999). BIOSYS-2. University of Illinois, Champaign, IL.

AGRADECIMIENTOS: Trabajo financiado por CICYT, AGF98-0503 y DARP.

APLICACIONES DE LA DIVERSIDAD MARGINAL Y ELASTICIDAD DE LA DIVERSIDAD DE WEITZMAN

David García, Javier Cañón

Laboratorio de Genética, Facultad de Veterinaria, UCM
28040-Madrid

INTRODUCCIÓN

En la X Reunión Nacional de Mejora Genética Animal se presentó (García *et al.*, 2000) una primera aplicación de los métodos propuestos por Weitzman (Weitzman, 1992) para el cálculo de una medida de diversidad genética con buenas propiedades de cara a su utilización en programas de gestión de la biodiversidad. La medida de Weitzman utiliza como información distancias entre unidades taxonómicas, sean éstas individuos, poblaciones o razas, y proporciona un valor de diversidad conjunta. El algoritmo permite asímismo construir un árbol jerárquico que refleja de forma intuitiva tanto los efectos de la pérdida de una determinada población como una aproximación al desarrollo evolutivo del conjunto que se esté estudiando.

Teniendo como finalidad aportar un criterio científico objetivo para la distribución de fondos económicos en programas de conservación de recursos genéticos, el propio Weitzman definió poco después (Weitzman, 1993) lo que llamó *diversidad marginal* y *elasticidad de la diversidad*. El cálculo de estas dos medidas exige la determinación de probabilidades de extinción para cada una de las poblaciones involucradas, de forma que los recursos económicos irían encaminados a intentar disminuir estas probabilidades de la forma más razonable posible. La diversidad marginal y la elasticidad facilitan esta tarea al aportar valores relativos del cambio en la diversidad esperada al cabo de cierto número de generaciones según varíen las probabilidades de extinción.

MATERIAL Y MÉTODOS

El procedimiento descrito por Weitzmann (1992) se aplicó a un total de trece razas bovinas europeas (Cañón *et al.*, 2001). Puesto que este método ya está suficientemente descrito en la bibliografía (García *et al.*, 2000; Thaon d'Arnoldi, 1998; Weitzman, 1992) no detallaremos aquí su funcionamiento. Sí es, sin embargo, novedosa la utilización de dos medidas para ponderar el incremento en la diversidad de, en este caso, la especie, en función de variaciones en las probabilidades de extinción de las razas, las llamadas *diversidad marginal* y *elasticidad de la diversidad*. Para definir estos conceptos es necesario introducir previamente el de *diversidad esperada* al cabo de un determinado número de generaciones.

Supongamos que tenemos un total de n razas y que para cada una de ellas se conoce la probabilidad de extinción en el transcurso de una generación, P_i, con $1 \leq i \leq n$ (sobre la subjetividad de la elección de estas probabilidades se discutirá posteriormente, aportando posibles soluciones a este problema). Al cabo de t generaciones, sea $S \subseteq I$ el subconjuto de razas del conjunto inicial (I) que han sobrevivido. La probabilidad de este subconjunto viene dada por

$$P_t(S) = \prod_{i \in S} (1 - P_i)^t \prod_{i \in I \setminus S} \left[1 - (1 - P_i)^t\right]$$

Además, para cada S se puede calcular la correspondiente medida de diversidad $V(S)$, con lo que se puede definir la *diversidad esperada* al cabo de t generaciones como $E_t(V) = \sum_{S \subseteq I} P_t(S) V(S)$.

Ahora, se define la *diversidad marginal* para la especie *i* como

$$DM(i) = \frac{\partial E_t(V)}{\partial P_i},$$

y la *elasticidad de la diversidad* para la especie *i* como

$$ED(i) = \frac{\partial E_t(V)}{\partial P_i} \frac{P_i}{E_t(V)}.$$

De esta forma, la diversidad marginal permite apreciar cómo varía la diversidad esperada en un entorno de la probabilidad de extinción de la raza *i*, mientras que la elasticidad aporta una visión similar, pero haciendo referencia a variaciones relativas de la probabilidad de extinción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con los datos de distancias genéticas de Reynolds para las trece razas estudiadas (Cañón *et al.*, 2001), se obtiene, por medio del procedimiento de Weitzman (1992), el árbol jerárquico recogido en la Figura 1.

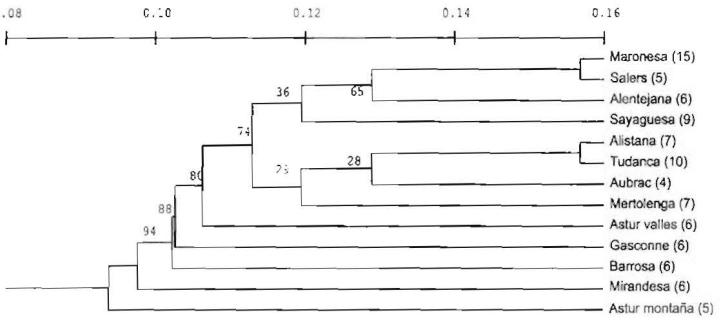


Figura 1: Árbol jerárquico de las trece razas obtenido mediante el procedimiento de Weitzman. Junto a cada nodo, incluidos los terminales, figura el porcentaje que las razas que abarca aportan a la diversidad conjunta.

Para llevar a cabo el estudio de la diversidad marginal y la elasticidad, dada la carencia de información sobre probabilidades de extinción de las razas analizadas, se ha optado por utilizar un enfoque dirigido a la supervivencia genética en lugar de la física, y considerar como "probabilidades de extinción" las respectivas homocigosis de cada una de las razas, basándose en la idea de que una homocigosis igual a uno significa la muerte genética de una población por fijación de todas las alternativas alélicas en todos los genes de todos los individuos. En la Tabla 1 se pueden observar los valores de diversidad marginal y elasticidad de todas las razas al cabo de diez generaciones.

Especie	Homocigosis	Diversidad marginal	Elasticidad de la diversidad
Salers	.4200	4.1094	4.8575
Aubrac	.4310	3.6329	4.4067
Gascon	.3700	7.0108	7.3004
Alistana	.3710	6.9372	7.2433
Asturiana de montaña	.3480	7.0089	6.8645
Asturiana de valles	.3440	8.6208	8.3462
Sayaguesa	.3460	11.2147	10.9205
Tudanca	.4040	4.9468	5.6245
Alentejana	.3780	6.3234	6.7270
Barrosã	.2840	17.1324	13.6935
Maronesa	.3650	10.8828	11.1793
Mertolenga	.3740	6.3426	6.6761
Mirandesa	.3750	5.8371	6.1604

Tabla 1: Diversidad marginal y elasticidad de la población para las trece razas al cabo de diez generaciones (valores normalizados a 100).

El hecho de considerar la homocigosis como un parámetro sinónimo de la probabilidad de extinción, y asumiendo que el modelo que puede ser ajustado para definir la evolución en el tiempo de la probabilidad de extinción también puede aplicarse a la evolución en el tiempo de la homocigosis, hace que la importancia relativa de las diferentes razas se modifique, a veces sustancialmente, respecto a su contribución a la diversidad del conjunto de razas consideradas en el estudio. Así, por ejemplo, como se puede ver en la Tabla 2, después de 10 generaciones sólo el 50 % de las razas que aparecían como más importantes al comienzo del proceso se mantienen. Es interesante anotar el hecho de algunas razas, por ejemplo la asturiana de los valles o la barrosã, que al principio se sitúan entre las menos rentables en términos de diversidad marginal , sin embargo, pasadas un número de generaciones aparecen siempre entre las que más aportan.

Generación 1		Generación 10		Generación 20	
maronesa	maronesa	barrosã	barrosã	barrosã	barrosã
sayaguesa	tudanca	sayaguesa	maronesa	sayaguesa	sayaguesa
tudanca	sayaguesa	maronesa	sayaguesa	asturiana valles	asturiana valles
alentejana	alentejana	asturiana valles	asturiana valles	maronesa	maronesa

Tabla 2: Razas con mayores valores de diversidad marginal (izquierda) y elasticidad (derecha).

En general, la correlación entre las medidas de diversidad marginal en las diferentes generaciones tiene valores elevados y diferentes de 0, mientras que la correlación entre las medidas de elasticidad de la diversidad entre los valores de generaciones alejadas no es diferente de 0.

El uso que aquí se le ha dado a las homocigosis como sustituto de las probabilidades de extinción es provisional, puesto que se complementará en un futuro con la aplicación de la teoría de procesos de difusión para modelar la evolución de las frecuencias alélicas (Crow & Kimura, 1970; Lynch & Walsh) con el objetivo último de aproximar una función de distribución para la homocigosis y completar así la equiparación a efectos analíticos de la supervivencia genética con la supervivencia física.

Otro punto a completar del desarrollo hecho por Weitzman es la acomodación de un modelo de variabilidad con el tiempo en las distancias entre unidades taxonómicas, ya que tal como se concibe el procedimiento, no se contempla el hecho de que las distancias varían a medida que transcurren las generaciones, y todos los cálculos se hacen con la matriz de distancias proporcionada en la generación inicial.

AGRADECIMIENTOS

Las distancias genéticas entre las razas fueron obtenidas en el marco del proyecto financiado por la UE nºFAIR1 PL95 702 y la CICYT, nº AGF96-1950-CE.

BIBLIOGRAFÍA

Cañon, J., Alexandrino, P., Bessa, I, Carleos, C, Carretero, Y, Dunner,S., Ferran, N, Garcia, D., Jordana, J., Laloë, D., Pereira, A., Sanchez, A., Moazami-Goudarzi, K. (2001). Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. Genetics, Selection and Evolution (en prensa).

Crow, J.F.; Kimura, M. (1970) An introduction to population genetics theory. Harper & Row, Publishers, Inc., N. Y.

García, D.; Checa, M.L.; García-Atance, P.; Dunner, S.; Canón, J. (2000) Medidas de diversidad genética en poblaciones de caballos celtas españoles. X Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Caldas de Munbuí, 8-9 de Junio de 2000.

Lynch, M.; Walsh, B. (Draft) Evolution and selection of quantitative traits.

Thaon d'Arnoidi, C., Foulley, J.L., Ollivier, L., (1998). An overview of the Weitzman approach to diversity. *Genetics, Selection and Evolution*, 30, 149-161.

Weitzman, M.L. (1992) On diversity. *The Quarterly Journal of Economics*, 107, 363-405.

Weitzman, M. (1993). What to preserve?. An application of diversity theory to crane conservation. *The Quarterly Journal of Economics*, 108, 157-183.

Patología animal

DINÁMICA DE LA ELIMINACIÓN DE HUEVOS DE NEMATODOS GASTROINTESTINALES EN EL GANADO OVINO EN EL PERÍODO DEL PERIPARTO[1]

M.M. LLorente[(a)], J. Valderrábano[(b)], J. Uriarte[(b)]
(a) Universidad Cardenal Herrera-CEU; (b) Servicio de Investigación Agroalimentaria, Diputación General de Aragón. Apdo. 727, 50080 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la excreción de huevos de nematodos gastrointestinales en torno al parto, conocido con el nombre de "periparturient rise" (PPR) es posiblemente el fenómeno más importante en la epidemiología de la Gastroenteritis Parasitaria Ovina (Lloyd, 1983). La trascendencia del PPR en el desarrollo posterior de la infección, ha llevado a considerar a la desparasitación de las ovejas en torno al parto como una medida indispensable en el control de la enfermedad (Michel, 1985; Taylor et al.,1990; Juste y García, 1991).

La problemática planteada en los últimos años por el uso abusivo de fármacos en el control de los nematodos gastrointestinales, ha supuesto un interés creciente por estudiar el PPR y desarrollar métodos no quimioterapéuticos que lo controlen. En la actualidad el PPR se asocia a un descenso de la inmunidad local a la infección provocada por la movilización de los anticuerpos del tracto gastrointestinal a la mama en torno al parto (Jeffcoate et al., 1992), que conllevaría, entre otros, un aumento de la población parasitaria de los animales. Sin embargo este aumento de la parasitación es función de la disponibilidad de larvas en la hierba y es de esperar, por tanto, que el PPR varíe con la época del año en que tenga lugar la paridera.

El objetivo del presente trabajo fue establecer el modelo de excreción de huevos de nematodos gastrointestinales (NGI) en función de la época del año en que se produce el parto.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se realizó durante tres años consecutivos en 60 ovejas de raza Rasa Aragonesa de 2 a 4 años de edad al inicio del ensayo. Los animales formaban parte de un rebaño de aproximadamente 450 ovejas, que practicaba un pastoreo rotacional de cultivos de regadío, con aprovechamiento de nabos forrajeros durante el invierno y praderas el resto del año. Los animales estaban organizados en dos grupos de tamaño similar para facilitar un sistema reproductivo de tres partos cada dos años, concentrándose las parideras en febrero-marzo (F-M), junio-julio (J-Jl) y octubre-noviembre (O-N). A lo largo del período experimental, ninguno de los efectivos del rebaño fue desparasitado

Cada dos semanas se tomaron muestras de heces de los animales experimentales, realizando recuentos individuales de huevos de parásitos por el método de McMaster modificado (Raynaud, 1970). A intervalos semanales se

[1] Trabajo financiado por el Proyecto de Investigación FAIR 3 CT 96-1485

recogieron muestras de hierba (Taylor, 1939) en dos praderas, con objeto de valorar la contaminación del pasto por larvas de nematodos gastrointestinales, expresando los resultados en larvas/Kg de materia seca de hierba (L3/Kg).

Los datos se analizaron por medio del procedimiento GLM (SAS, 1991), para establecer los efectos del estado fisiológico (vacías/gestantes-lactantes), período de periparto (preparto/postparto) y época del año (F-M, J-Jl, O-N) sobre la excreción de huevos. Los datos de las eliminaciones de huevos se transformaron mediante la función logarítmica $\log_{10}(x+1)$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto la población de larvas en la hierba como la eliminación de huevos en los animales tuvieron una evolución similar durante los tres años de estudio. Es por ello que se han agrupado los resultados de los tres años en uno solo, para facilitar la interpretación. La hierba presentó tres períodos de máxima contaminación: entre enero y marzo, junio y finales de julio y octubre y finales de noviembre. Durante el verano el nivel de contaminación del pasto fue muy bajo (Figura 1). Las eliminaciones de huevos (Figura 1) se ajustaron al modelo de contaminación del pasto, salvo en los meses iniciales (enero-marzo) en los que el manejo del pastoreo limitó la ingestión de la población larvaria existente.

Al estudiar la eliminación de huevos en función del estado fisiológico, se observó que la eliminación media de huevos de NGI en las ovejas gestantes fue significativamente superior a la registrada en las ovejas vacías (1.012±46,93 ***vs*** 595,0±40,92 Hpg; $p=0,0001$). Estas diferencias fueron particularmente notables durante la paridera de J-Jl y O-N. Por el contrario, en la paridera de F-M las eliminación media de huevos de las ovejas gestantes y vacías fue de similar magnitud, no observándose diferencias entre ellas.

El estudio del factor período de periparto sobre la excreción de huevos de NGI puso de manifiesto que los recuentos de Hpg comenzaron a incrementarse aproximadamente un mes antes del parto, alcanzaron el valor máximo un mes después de éste y posteriormente descendieron para situarse, a las 12 semanas postparto, en valores similares a los observados al inicio del período considerado (Figura 2). Sin embargo, el análisis por separado de las diferentes épocas de parto, reveló que mientras las eliminaciones de huevos de las parideras de J-Jl y O-N se ajustaron al patrón general de excreción, el modelo correspondiente a la paridera de F-M difirió sensiblemente, dado que el aumento de las excreciones tuvo lugar después del parto, alcanzándose los valores más elevados a las 12 semanas postparto. Esta diferencia podría ser explicada porque el manejo del pastoreo limitó la posibilidad de infección de los animales durante los meses en que tuvo lugar la paridera.

Los resultados del presente ensayo indican que el PPR varió con la época del año en que tuvo lugar la paridera, como consecuencia de los diferentes niveles de infección a que estuvieron sometidos los animales. En consecuencia la utilización de praderas con bajos niveles de contaminación (sanas) durante el periparto podría reducir la utilización de quimioterapéuticos en el control de los nematodos gastrointestinales del ganado ovino.

Figura 1: Evolución del recuento de huevos en las ovejas (x) y población de larvas en el pasto (área sombreada)

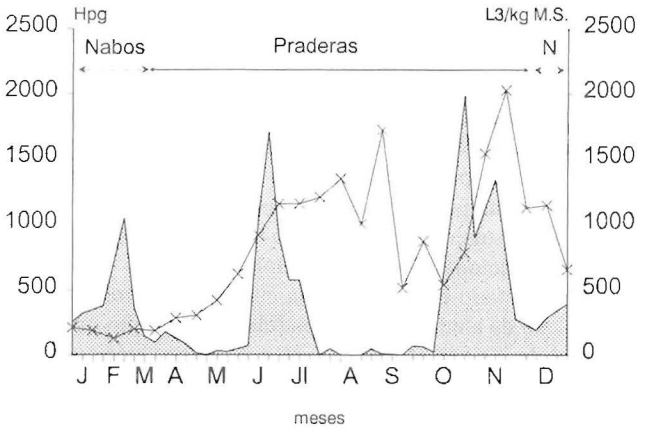
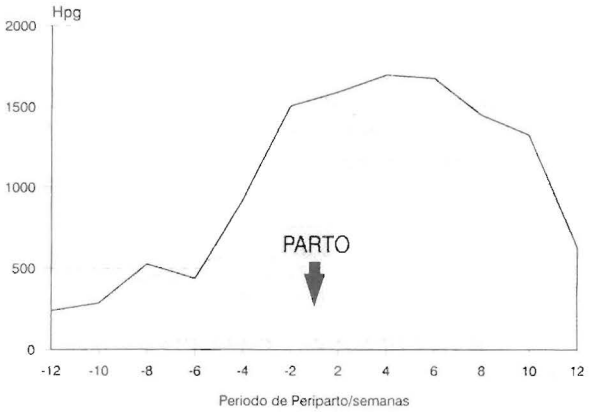


Figura 2: Excreción de huevos de nematodos gastrointestinales en torno al parto



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Jeffcoate, I.A., Wedrychowicz, H., Fishwick, G., Dunlop, E.M., Duncan, J.L., Holmes, P.H., 1992. Res.Vet.Sci., 53:212-218.

Juste , R.A., García, A.L., 1991. Vet. Parasitol., 38:173-183.

Lloyd, S., 1983. Vet.Immunol.Immunopathol., 4:153-176.

Michel, J.F., 1985. Parasitology, 90:621-628.

Raynaud, J.P., 1970. Ann. Parasit. Hum. Comp., 45:321-342.

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

Taylor, E.L., 1939: Parasitology, 31:473-478.

Taylor, M.A., Hunt, K.R., Wilson, C.A., Quick, J.M., 1990. Vet.Rec., 126: 555-556.

EFECTO DEL PLANO DE ALIMENTACIÓN SOBRE EL DESARROLLO DEL PARASITISMO GASTROINTESTINAL EN CORDERAS.[⊗]

J. Valderrábano, R. Delfa, J. Uriarte
Servicio de Investigación Agroalimentaria, Diputación General de Aragón.
Apdo. 727, 50080 Zaragoza. E-mail: Jvalderrabano@aragob.es

INTRODUCCIÓN

Los parásitos gatrointestinales (GI) deprimen la ingestión y la eficacia de utilización de nutrientes limitando el desarrollo de corderos en crecimiento (Coop et al., 1982; Dakkak, 1990). La infección por nemátodos GI en la especie ovina está regulada predominantemente por la adquisición de la inmunidad (Roberts y Adams, 1990) aunque con frecuencia se ha sugerido que el estado nutricional del huésped puede influir en la patogénesis de las infecciones parasitarias (Holmes, 1993).

Actualmente se ha incrementado el interés por la interacción entre el estado nutricional del huésped y la capacidad de anidamiento/fecundidad del parásito por las posibilidades que ofrece en el control de los nemátodos en sistemas de producción sostenibles como alternativa al uso frecuente de fármacos. La mayoría de los trabajos experimentales se han centrado en los efectos de la alimentación proteica sobre la resiliencia, entendida como la capacidad del huésped para mantener un nivel razonable de producción frente a infecciones parasitarias (Albers et al., 1987), o la resistencia a los parásitos (capacidad del huésped para limitar el anidamiento, crecimiento, fecundidad y/o persistencia de la población parasitaria) dado que la mayoría de los mecanismos efectores del sistema inmune son de naturaleza proteica. De hecho se acepta que en animales con un adecuado nivel de alimentación, la suplementación proteica mejora la resiliencia del huésped pero no parece estimular de manera significativa el desarrollo de la expresión de la resistencia (Jackson, 2000). Sin embargo, otros trabajos recientes sugieren la existencia de un efecto positivo de la suplemetación energética sobre la expresión de la inmunidad en ovinos adultos (Ferre et al., 1995; García-Perez, et al., 1994).

El objetivo del presente trabajo fue examinar el desarrollo del parasitismo gastrointestinal, producción y patofisiología del parasitismo en corderas sometidas a dos planos de alimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 40 corderas Rasa Aragonesa de 4 meses de edad y 22.7 $\pm$0.465 kg al inicio del ensayo que fueron mantenidas en estabulación durante el periodo de cria. Los animales fueron mantenidos en cajas individuales durante las 10 semanas que duró el ensayo y recibieron una dieta común en forma de pellets con un contenido del 17.6% PB, 10% FB, 8.3% cenizas y con una digestibilidad del 91.2% de la MS. Tras un periodo previo de 5 dias para estimar su ingestión voluntaria y en el que los animales fueron desparasitados (fenbendazol 5mg/kg PV), los animales fueron estratificados en base al PV y distribuidos en 6 grupos, dos de 6 y cuatro de 7 animales cada uno. Tres grupos fueron alimentados *ad libitum* (H) (n=20) y los tres restantes a 0.6 x *ad libitum* (L) (n=20). Desde la semana 2 a la 8 del ensayo, las corderas en cada plano de alimentación recibieron 0 (n=12), 1500 (n=14) ó 7000 (n=14) L_3 de *Teladorsagia circumcincta* a la semana suspendidas en 5 ml de agua en dos dosis.

[⊗] Trabajo financiado por los proyectos FAIR 3 CT 96-1485 y INIA SC00-060

Semanalmente, los animales fueron pesados tomandose muestras de sangre y heces para estimar la evolución del pepsinógeno sérico y la excreción de huevos por g de materia fecal (Hpg).

Dos semanas después de la última infección se sacrificaron todos los animales estimándose el grado de engrasamiento, la conformación de las canales y la carga parasitaria. El conteo del nº total de hembras y machos de *T. circumcincta* en el abomaso se realizó según el método descrito por el MAFF (1971). La fecundidad de la hembras se calculó a partir del valor Hpg antes del sacrificio y el nº de hembras recogidas del abomaso. La longitud de las hembras se midió mediante análisis de imagen (Foster-Findlay PC-imagen).

Para el análisis estadístico se utilizó el procedimiento GLM (SAS Institute Inc. 1998) para establecer la significación del plano de alimentación (H y L), el nivel de Infección (0, 1500 y 7000 L3) y sus interacciones (Ntr x Inf) en aquellas variables no sometidas a medidas repetidas. Cuando no se observaron diferencias entre las dosis 1500 y 7000 L_3 los datos se agruparon realizandose el análisis para dos niveles de infección (control e infectados). El nº de Hpg y el pepsinógeno sérico fueron analizados (log n+1) como medidas repetidas. El nº de machos y hembras recuperados en el abomaso de los animales infectados con 1500 y 7000 L3 fue comparado mediante un test X^2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El plano de alimentación mostró un efecto significativo sobre todos los parámetros medidos sobre el animal vivo y la canal como cabia esperar (Cuadro 1). Las corderas parasitadas presentaron valores inferiores a las no infectadas en todos los parámetros estudiados siendo la ingestión de MS y el peso de la canal fria (PCF) los mas afectados por la presencia de infección. Estos efectos fueron, sin embargo, mas evidentes en aquellos lotes alimentados *ad libitum* que en los restringidos, lo que sugiere que el efecto de los nemátodos GI en el crecimiento de las corderas se debe fundamentalmente a sus efectos sobre la ingestión que decreció alrededor de un 10%. El efecto de la ostertagiasis sobre la ingestión voluntaria ha sido previamente observado en otras razas ovinas (Coop et al., 1982) y considerado como un efecto colateral de las parasitosis, aunque actualmente se considera la respuesta anoréxica como una estrategia comportamental desarrollada por el organismo que modifica numerosos procesos metabólicos e inmunológicos proporcionando un medio homeostático óptimo para eliminar el agente patógeno (Exton, 1997).

Cuadro 1. Efecto de los niveles de alimentación e infección sobre el crecimiento y parámetros de la canal.

Nutrición	H		L			Effectos		
Infección	Control	Infectado	Control	Infectado	RSD	Ntr	Inf	Ntr x Inf
Ingestión (g/d)	1070	960	616	614	68.5	***	*	ns
Crecimiento (g/d)	231.9	186.4	95.4	104.9	31.81	***	ns	ns
PCF (kg)	20.1	18.3	15.3	14.7	1.68	***	*	ns
Grasa interna (g)	1647	1327	798	751	308.7	***	ns	ns
Longitud canal (cm)	62.2	60.4	58.3	57.6	1.70	***	*	ns
Conformación	7.3	6.3	5.3	5.6	1.04	***	ns	ns
Engrasamiento	9.5	8.4	6.5	6.1	2.01	***	ns	ns

El análisis de la excreción de huevos en las heces como medidas repetidas presentó un efecto significativo del nivel de infección sobre Hpg. Los animales alimentados a un nivel restringido presentaron valores superiores de Hpg que los alimentados *ad libitum*, sin embargo, el análisis no puso en evidencia la existencia de diferencias significativas debidas al plano de alimentación.

Cuadro 2. Efectos de los niveles de nutrición e infección sobre la carga parasitaria.

Nutrición	High		Low			Effects		
Infección	1500 L3	7000 L3	1500 L3	7000 L3	RSD	Ntr	Inf	Ntr x Inf
Carga total	1611.4	6682.8	1985.7	4225.7	1701.06	ns	***	*
Hembras	894.3	3917.1	1105.7	2485.7	1032.00	ns	***	*
Hembras/machos	1.24	1.41	1.25	1.42	---	ns	***	--
Longitud hembra	12.20	10.89	12.55	11.47	0.862	***	***	ns
Huevos/hembra	0.274	0.276	0.593	0.506	0.1844	***	ns	ns

El plano de alimentación no afectó significativamente a la carga parasitaria (Cuadro 2) que, sin embargo, aumentó significativamente ($P<0.001$) con el nivel de infección, como cabía esperar. La interacción observada ($P<0.05$) entre los niveles de alimentación y parasitación indica que a bajas dosis de infectación, planos de alimentación elevados son mas efectivos para controlar las cargas parasitarias que a dosis elevadas. El tamaño de las hembras de *T. circumcincta* disminuyó significativamente ($P<0.001$) tanto con el nivel de alimentación como con el de infección. El efecto de la densidad de carga parasitaria en el tamaño de los parásitos adultos ha sido previamente observado (Shostak y Scott, 1993) y explicado en términos de una posible competencia por nutrientes. Este hecho podría también explicar el aumento significativo del nº de hembras a altos niveles de infección mientras que los machos, de menor tamaño, parecen menos capacitados para competir con las hembras.

Planos elevados de nutrición han sido, exclusivamente, asociados con un aumento de la resiliencia en corderos (Jackson, 2000), sin embargo, el efecto significativo del nivel de alimentación sobre el tamaño medio de las hembras de *T. circumcincta* sugiere una respuesta inmunológica asociada a su fecundidad. Esta reducción en la producción de huevos y el aumento relativo del nº de hembras explica la falta de efectos significativos en Hpg con el nivel de alimentación. La concentración de PB del pienso suministrado a las corderas en este ensayo permitió cubrir sobradamente las necesidades de mantenimiento del lote restringido por lo que las diferencias entre los dos planos de alimentación considerados suponen, de hecho, el establecimiento de diferencias energéticas entre ellos como se evidencia en el aumento del estado de engrasamiento de las canales con el plano de alimentación. En consecuencia estos resultados sugieren que restricciones energéticas de la dieta, sin una malnutrición protéica simultanea, deprimen la adquisición de inmunidad frente a parásitos GI en corderas en crecimiento. En este sentido, trabajos recientes (Koski et al., 1999) llevados a cabo con ratones infectados con *Heligmosoides polygyrus* han puesto en evidencia el profundo impacto que deficiencias energéticas de la dieta tienen sobre la inmunidad tanto sistémica como de los tejidos linfoides asociados que condujo a un aumento de la carga y de la fecundidad de los parásitos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albers, G.A.A. et al. 1987. Int. J. Parasit. 17: 1355-1367.
Coop, R.L., Sykes, A.R., Angus, K. W. 1982. J. agric. Sci. 90. 247-255.
Dakkak, A. 1990. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 65:73-76.
Exton, M.S. 1997. Apetite, 29: 369-383.
Ferre, I. Et al. 1995. J. Anim. Feed Sci. 4: 237-245.
Garcia-Perez, A.L. et al. 1994. ITEA 90A: 139-147
Holmes, P.H. 1993. Proc. Nutr. Soc. 52: 113-120.
Jackson, F. 2000. Proc. 7th. Int. Conf. Goats. Tours (Francia) pp. 789-792.
Koski, K.G., Su. z., Scott, M.E. 1999. Bioch. Bioph. Res. Com. 264: 796-801
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, 1971. HMSO. London. Tech. Bull., 18: 131
Robets, J.A., Adams, D.B. 1990. Aus. Vet. J. 67: 89-91.
Shostak, A.W., Scott, M.E. 1993. Parasitology. 106: 527-539.

EFECTO OVICIDA Y LARVICIDA DE CIERTOS EXTRACTOS VEGETALES*

J. Valderrábano, J. Uriarte
Servicio de Investigación Agroalimentaria, Diputación General de Aragón
Apdo. 727, 50080 Zaragoza. E-Mail Jvalderrabano@aragob.es

INTRODUCCIÓN

La infección por nemátodos gastrointestinales (GI) es uno de los principales factores limitantes para el desarrollo de los sistemas de producción de rumiantes en base al pasto (Uriarte y Valderrábano, 1989), lo que ha dado lugar a que los tratamientos antihelmínticos se hayan convertido en una práctica rutinaria de manejo en las explotaciones ovinas. Sin embargo, numerosos informes (Waller, 1997) han puesto en evidencia la aparición de resistencias vinculadas al uso reiterado de fármacos, lo que exige la búsqueda de otros métodos alternativos para el control de los nemátodos que sean baratos y seguros para el consumidor.

El interés por reducir la aplicación de productos químicos de síntesis en agricultura, está llevando a intensificar el estudio de los productos naturales. El efecto vermífugo de extractos de ciertos plantas es conocido de antiguo (Font Quer, 1981). Aunque su modo de acción no es bien conocido todavía parece que sus propiedades antihelmínticas se deben a una inhibición de la acetilcolinesterasa, enzima que interviene en los procesos de transmisión del impulso nervioso (Korayen et al., 1993).

Este trabajo se realizó para valorar *in vitro* la capacidad de extractos acuosos de *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Punica granatum* (granado) y *Timus vulgaris* (tomillo) para inhibir la eclosión de huevos y la evolución a larvas infectantes de nemátodos gastrointestinales ovinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los extractos acuosos se prepararon a partir de 10 g de hojas y flores de ajenjo (A) y tomillo (T) y de frutos de granado (G), previamente desecados en estufa a 60°C, mantenidos en maceración con 250 ml de agua destilada durante 48h. Tras este tiempo, el macerado se filtró, constituyendo este filtrado la solución que llamaremos S, a partir de la cual se prepararon diluciones al 50% (S/2), 25% (S/4), 12.5% (S/8) y 6.25% (S/16).

La potencialidad de estos extractos acuosos como antihelmínticos se valoró *in vitro* según el método descrito por Hubert y Kerboeuf (1992). Los efectos antiparasitarios fueron testados frente a una mezcla de huevos de nemátodos GI constituida principalmente por *Ostertagia* spp , *Haemonchus* spp. y *Trichostrongylus* spp. procedente de heces de una oveja adulta donante del rebaño experimental del SIA. La concentración de huevos obtenida tras sucesivos lavados y filtrados se estimó en 5 muestras de 50 µl. El efecto ovicida se estimó a partir del número de larvas desarrolladas sobre cantidades conocidas de huevos incubados en medio nutritivo a 27°C durante 48h a las que se les añadió la solución S en concentraciones del 100, 50, 25, 12.5 y 6.25% o agua destilada. El test de desarrollo larvario se llevó a cabo tras 48h de incubación cuando los parásitos habían alcanzado el 1er estadio larvario. Entonces, se añadieron las concentraciones de la solución S establecidas a los cultivos. El 3er

* Trabajo financiado por el proyecto INIA SC00-060

estadio larvario se alcanzó siete dias mas tarde, valorandose entonces el número de larvas vivas por tratamiento.

Se utilizaron como referencia los antihelminticos comerciales fenbendazol (F) (Panacur 25mg/ml de Hoechst Rousset Vet.) y levamisol (L) (Levamisol 100 de Industrial Veterinaria, S.A) a concentraciones de 10; 1; 0.1; 0.01 y 0.001µg/ml, por ser compuestos de uso habitual y representantes de dos grupos de fármacos con mecanismos de acción diferentes. La valoración de los tratmientos antihelmínticos a las distintas concentraciones empleadas y de las nuestras testigo se hizo por triplicado expresandose los resultados en % de huevos eclosionados o L3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mientras que el 69.4% de los huevos eclosionaron tras ser incubados *in vitro* durante 48 h en el tratamiento testigo, la proporción de huevos eclosionados se redujo significativamente ($p<0.05$) tanto cuando se incubaron en la solución standard (S) de ajenjo (4.6%), granado (0%) o tomillo (11.9%) como a concentraciones diluidas S/2 e incluso para las S/4 de ajenjo y granado (Fig 1) . A mayores diluciones la proporción de huevos eclosionados no difirió de la observada en el tratamiento testigo para ninguno de los extractos estudiados. El tratamiento con levamisol a 10 µg/ml presentó uno porcentaje de eclosión de huevos del 13.9% que fue creciendo con la dilución, aunque siempre se mantuvieron inferiores al testigo. Sin embargo, los tratamientos con fenbendazol no presentaron efectos ovicidas significativos.

En el tratamiento testigo un 65.7% de los huevos eclosionados evolucionaron a larvas infectantes (L3), no observandose ninguna larva viva en los cultivos tratados con la dosis standard de granado y unicamente un 32% en los de ajenjo. En cultivos tratados con diluciones mayores de estos extractos y en los de tomillo el porcentaje de larvas evolucionadas no difirieron del testigo. El efecto larvicida de los antihelminticos comerciales utilizados resultó muy evidente hasta concentraciones de 0.001 µg/ml en el caso del levamisol y de 0.1 µg/ml en el caso del fenbendazol a partir de las cuales el porcentaje de larvas L3 no difirieron de las encontradas en el testigo.

Fig 1. Huevos eclosionados (%)

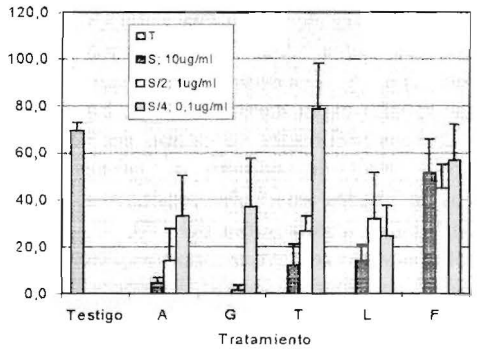
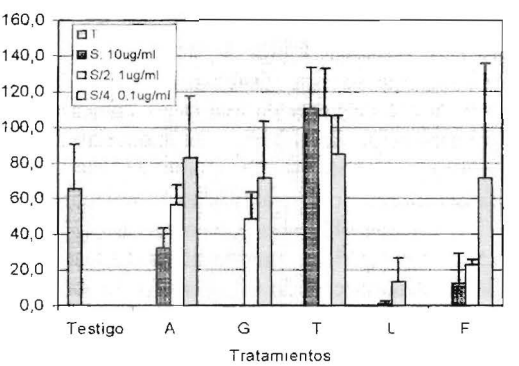


Fig 2. Evolución de L3 (%)



Los resultados obtenidos ponen claramente de manifiesto el efecto inhibitorio de los extractos acuosos de ajenjo, granado y tomillo en el desarrollo del ciclo de los parasitos gastrointestinales del ganado ovino. Las propiedades ovicidas de los extractos estudiados se pusieron en evidencia tanto por la reducción, en relación al testigo del porcentaje de eclosión de huevos incubados en presencia de concentraciones S y S/2, como por la similitud de respuesta frente al levamisol y fueron claramente superiores a la respuesta frente al fenbendazol para las concentraciones utilizadas. Sin embargo, la capacidad de inhibición del desarrollo larvario únicamente difirió del testigo en el tratamiento S para el ajenjo y el granado (Fig 2) aun cuando las larvas parecen ser mas susceptibles a los antihelminticos que los huevos (Hubert y Kerboeuf, 1992). En este sentido es de destacar el aumento del porcentaje de evolución a L3 del tratamiento S de ajenjo respecto a ensayos anteriores (Bara et al., 1999) que se observaron evoluciones del 9% a larvas infectantes de *Trichostrongylus colubriformis*. Este incremento podría ser debido a que en el presente ensayo los extractos se testaron frente a una mezcla de parasitos cuya susceptibilidad frente al ajenjo podria diferir según la especie.

La eficiencia de metabolitos secundarios extraidos de algunas especies de plantas frente a la motilidad y eclosión de huevos de nemátodos parásitos de plantas, ya fue puesto en evidencia por Korayen et al., (1993). Aunque en el caso de parásitos animales los test *in vitro* no tienen en cuenta la metabolización del producto en el huesped, en estudios con fármacos convencionales se han observado buenas correlaciones entre la susceptibilidad de los estados libres y la de los parásitos (Kerboeuf, 1991), por lo que los extractos estudiados, sobre todo de ajenjo y granado ofrecen grandes posibilidades como antihelmínticos naturales de los nemátodos gastrointestinales.

REFERNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bara, S. Zaragoza, C., Valderrábano, J. 1999. Congr. Soc. Espaañola de Malherbología, 233-240.

Font Euer, P. 1981. Editorial Labor. 1033 pp.

Hubert, J. Kerboeuf, D. 1992. Vet. Rec. 130: 442-446.

Kerboeuf, D. 1991. Journees Toulousaines de Parasitologie Vet. 30-41.

Korayem, A.M., Hasabo, S.A., Ameen, W.W. 1993. Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 66: 32-36.

Uriarte, J., Valderrábano, J. 1989. Vet. Parasitol. 31:71-81.

Waller, P.J. 1997. Vet. Parasitol. 72: 391-412.

APLICACIÓN DE PCR PARA EL DIAGNÓSTICO DE ABORTOS POR *TOXOPLASMA* EN GANADO OVINO

Hurtado A., Aduriz G., Moreno B., Barandika J. y García-Pérez A.L.

Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, NEIKER. Berreaga 1, 48160 Derio, Bizkaia, ahurtado@neiker.net

INTRODUCCIÓN

De entre los abortos de tipo infeccioso *Toxoplasma gondii* es considerado una de las causas más importantes. El ganado ovino se infecta a través de alimentos contaminados por ooquistes excretados por gatos jovenes. En la mayoría de los casos la infección cursa de forma subclínica en la oveja, de manera que pasa desapercibida. Además un contacto previo con la enfermedad confiere inmunidad frente a reinfecciones. Sin embargo, cuando la infección tiene lugar por primera vez durante la gestación, *T. gondii* constituye una de las principales causas de aborto y mortalidad neonatal (1) con las consiguientes implicaciones económicas. Estudios previos realizados mediante exámen histológico y análisis serológico de fetos determinaron el importante papel que juega *T. gondii* en la etiología de los abortos ovinos en la Comunidad Autónoma del País Vasco (2). Sin embargo, el diagnóstico de la toxoplasmosis ovina es difícil de realizar basándonos en la epidemiología al ser ésta similar a la que se presentan en otros procesos causantes de aborto, y las lesiones macroscópicas del feto no son concluyentes. El exámen microscópico puede esar comprometido por la autolisis, y finalmente, la serología fetal depende del desarrollo inmunológico del feto (3). Es por esto que hemos desarrollado una técnica de PCR para la detección de DNA de *Toxoplasma* en tejidos fetales, y completar el protocolo laboratorial del diagnóstico de los abortos en NEIKER. Como parte de un estudio más amplio para el diagnóstico de las causas de aborto ovino, en este trabajo se exponen los resultados de la aplicación de esta técnica de PCR a los casos remitidos durante la paridera 1999-2000, y se comparan con los obtenidos por histología y serología.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras. Las muestras estudiadas consistieron en fetos (encéfalo, bazo, pulmón, hígado, riñón y líquido fetal), placentas, hisopos vaginales, sueros sanguíneos y sangres enteras de sus madres, procedentes de 32 explotaciones. Con estas muestras se realizaron una serie de análisis para el estudio de la causa de aborto:

Análisis anatomopatológico e histopatológico. Muestras de tejido fetal se fijaron en formol y fueron incluidas en parafina. Secciones de 4 µm se tiñeron con hematoxilina-eosina.

Análisis serológico. La presencia de anticuerpos frente a *Toxoplasma* en fluido fetal y sueros maternos se determinó mediante inmunofluorescencia indirecta (Toxospot IF; Bio-Merieux), utilizando conjugado anti IgG ovino (SIGMA).

Otros agentes abortivos. Se investigó la presencia de otros agentes abortivos: *Chlamydia*, *Brucella*, *Yersinia*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Ehrlichia phagocytophila* (fiebre por garrapatas), virus de la enfermedad de Border (BD) y fiebre Q mediante técnicas microbiológicas, serológicas, parasitológicas, etc (2).

Extracción de DNA y amplificación por PCR. Aproximadamente 1 g. de tejido fetal fue homogeneizado en buffer TE. 400 µl de esta suspensión se digirieron con proteinasa K y SDS, y el DNA se extrajo con fenol/cloroformo. Para determinar la presencia de DNA de *Toxoplasma* en diversos tejidos fetales se ha seleccionado la región comprendida entre el 18S y el 5.8S rRNA (ITS1) con alta variabilidad interespecífica pero altamente conservada dentro de la especie (99% entre cepas de *T. gondii*) y presente con 110 copias (4). Así mismo, y para reducir al máximo la probabilidad de contaminación sin detrimento de la sensibilidad de la técnica se ha usado una PCR anidada en un solo tubo. La especificidad de la técnica se determinó mediante análisis de DNA de organismos filogenéticamente próximos (*Neospora caninum* y *Sarcocystis sp.*) y la sensibilidad por diluciones seriadas de DNA de la cepa tipo de *T. gondii* RH. Tras la puesta a punto, se amplificaron 250 ng de DNA de cada muestra por PCR anidada en un solo tubo con cebadores específicos para la región intergénica 18S-5.8S rRNA (ITS1) de *T. gondii*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La PCR amplificó un fragmento del tamaño esperado (227 pb) de la región ITS1 a partir de DNA de la cepa tipo de *T. gondii* RH, sin embargo no se obtuvo ningún producto con DNA de *Sarcocystis sp.* ni *N. caninum*. Mediante diluciones seriadas se estableció un límite de detección de 0.1 pg (equivalente a 1 organismo) para DNA puro de *T. gondii* RH, y de 1 pg en presencia de DNA ovino.

Una vez establecidas la especificidad y sensibilidad de la técnica se analizaron un total de 53 fetos, de los que se procesaron por PCR 145 muestras de tejidos fetales. De éstas, 36 pertenecientes a 9 fetos y 1 mortinato procedentes de 8 explotaciones fueron positivos (Tabla 1), sugiriendo que *T. gondii* estaba implicado en los abortos ocurridos en el 25% de las explotaciones estudiadas. De entre los distintos tejidos fetales analizados se obtuvo un mayor porcentaje de PCR-positivos en muestras de encéfalo (9 de 9), placenta (3 de 3) y pulmón (8 de 9). El hecho de que el 100% de muestras de encéfalo fueran positivas por PCR estaría en concordancia con la mayor frecuencia con que se observan lesiones histológicas asociadas a toxoplasmosis en este tipo de tejido. Sin embargo, se observaron lesiones compatibles con infección por *T. gondii* consistentes en focos de gliosis compuestos por un centro necrótico eosinofílico a veces mineralizado, rodeado de células inflamatorias, en el encéfalo de 5 de estos fetos PCR-positivos. Por PCR se detectó DNA de *Toxoplasma* en todas las placentas disponibles para los casos positivos, pero al no disponer de muestra de placenta de los otros 7 animales es difícil sacar conclusiones sobre su idoneidad para el análisis por PCR. La serología fetal demostró la presencia de anticuerpos frente a *Toxoplasma* en 12 de las 41 muestras de fluido fetal analizadas. Nueve de ellas correspondían a fetos con lesiones histológicas asociadas a *Toxoplasma* y/o positivas por PCR (Tabla 1). No se confirmó la presencia de ningún otro agente abortivo entre las muestras positivas a *Toxoplasma*.

En todos los casos en que los resultados de histología y serología fueron positivos (HP^+ IFI^+) o negativos (HP^- IFI^-), la PCR fué del mismo signo. En los 4 casos en los que la serología fue positiva en ausencia de lesiones histológicas, uno fue también positivo por PCR; de los otros 3, en uno se detectaron títulos muy bajos (1/8) y de los otros dos, con títulos altos, sólo se pudo procesar por PCR muestra de bazo (única muestra disponible) que no es el tejido en el que se obtuvo mayor porcentaje de positivos. Además, dada la distribución focal del parásito, el análisis de una sola

muestra de tejido reduce la probabilidad de que ésta contenga el parásito y por tanto se pueda amplificar con éxito su DNA. El estado autolítico de otros 18 fetos impidió el exámen histopatológico. De entre éstos, 3 fueron positivos tanto por PCR como por serología. Además, 1 fue positivo por PCR en todos los órganos analizados pero negativo por IFI. Se trataba de un feto de 16 cm, lo que sugiere que se trataba de un aborto al comienzo de la gestación con lo cual el feto no era aún inmunocompetente, lo que explicaría el resultado negativo de IFI.

Tabla 1. Resultados de PCR para *T. gondii* en relación con histología (HP) y serología fetal (IFI)

Histología (HP)	Serología (IFI)	No. de fetos	No. PCR positivos §
+	+	5	5
-	-	22	0
+	-	0	0
-	+	4	1
-	NR	4	0
autolítico	+	3	3
autolítico	-	9	1
autolítico	NR	6	0

NR, test no realizado
§ Feto positivo por amplificación de DNA de *T. gondii* por PCR en al menos un tejido.

La ventaja de las técnicas de PCR y serología es su capacidad de detectar la infección por *Toxoplasma* incluso cuando el tejido está autolítico. Sin embargo la PCR presenta la ventaja adicional frente a la serología de detectar DNA de *T. gondii* independientemente del estado inmunológico del feto, además de poder identificar una infección transplacentaria en el caso de mortinatos en los que se sospeche que hayan tomado calostro y que darían falsos positivos por IFI. Así mismo, y dado que existen discrepancias a la hora de establecer un título de anticuerpos umbral indicativo de infección en fluidos fetales, la PCR aporta un resultado más concluyente. En conclusión, la sensibilidad y especificidad de la técnica de PCR en nido en un sólo tubo demuestran su utilidad para el diagnóstico de los abortos ovinos asociados a *Toxoplasma*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Departamento de Agricultura y Pesca del Gobierno Vasco (proyecto SPE1999012). A. Hurtado disfruta de una beca postdoctotal del INIA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Buxton D. 1991. Toxoplasmosis. *En:* Diseases of sheep, ed. Martin WB, Aitken ID, 2nd ed., pp.49-58. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
2. García-Pérez AL, Juste JA, *et al.* 1998. Revisión de la casuística de abortos ovinos del trienio (96-98) en NEIKER (sima). Producción Ovina y Caprina XIII Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC) XXIII:321-324.
3. Dubey JP, Emond JP, *et al.* 1987. J Am Vet Res 48: 1239-1243.
4. Homan WL, Limper L, Verlaan M, *et al.* 1997. Parasitol Res 83: 285-289.

DETECCIÓN DE PIROPLASMAS EN GANADO VACUNO DE LA ISLA DE MENORCA MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES.

S. Almería, J. Castellá, D. Ferrer, O. Sparagano*.
Parasitología y enfermedades Parasitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. Bellaterra 08193. Barcelona.
* Department of Agriculture, Newcastle Upon Tyne, UK.

INTRODUCCIÓN

Las piroplasmosis son enfermedades transmitidas mediante picadura de artrópodos que afectan a animales tanto domésticos como silvestres. Están producidas por especies de los géneros *Theileria* y *Babesia*, los cuales están ampliamente distribuidos por todo el mundo, siendo causa de importantes pérdidas productivas y de problemas en la salud animal. Además, algunas especies (*B. divergens*, *B. microti*) están involucradas en zoonosis (Sparagano, 1999).

La identificación basada en la observación microscópica de frotis sanguíneos es poco sensible y no permite la diferenciación de las especies involucradas en las infecciones, las cuales difieren en su poder patógeno. También las técnicas serológicas presentan inconvenientes debido a la aparición de reacciones cruzadas entre las especies que dificulta el diagnóstico (Papadopoulos et al.,1999). En la actualidad se han puesto a punto y se están empezando a utilizar técnicas más sensibles y específicas basadas en técnicas de biología molecular, como la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) y técnicas de PCR-hibridación entre las cuales la más recientemente descrita es la técnica de hibridación en linea inversa (RLB) (Gubbels et al., 1999).

La PCR presenta una alta sensibilidad y especificidad pero no permite la identificación conjunta de distintas especies. Por el contrario, la técnica RLB unida a una alta sensibilidad y especificidad permite la detección e identificación simultánea de una gran cantidad de patógenos, diferenciando también las especies no patógenas de *Theileria*. Además la técnica permite el estudio de 40 muestras diferentes a la vez.

En el presente estudio se identificaron las especies de los géneros *Theileria* y *Babesia* que parasitan al ganado vacuno en la isla de Menorca mediante RLB, permitiendo conocer la situación de estas parasitaciones en la isla y las especies involucradas en la parasitación.

MATERIAL Y MÉTODOS.

Se muestrearon un total de 133 vacas adultas de producción lechera en tres periodos de estudio: 45 animales fueron muestreados en marzo, 40 en junio y 48 en octubre. La PCR se realizó a partir de DNA aislado de 200 μl de sangre entera mediante extracción por fenol-cloroformo. La técnica RLB utiliza un set de iniciadores para la ampliación de las regiones hipervariables V4 del gen del RNA ribosomal común a todas las especies de *Theileria* y *Babesia*. Uno de los iniciadores está marcado con biotina que marca los productos obtenidos en la reacción de PCR. Estos productos son posteriormente hibridados a una membrana en la cual, a su vez, están ligados de manera covalente oligonucleótidos específicos para cada especie a

analizar. Los oligonucleótidos empleados en el estudio fueron: *T.annulata, T. buffeli, T. velifera, T. taurotragi, B. bigemina, B. bovis, B. divergens* y *B. Major* (Tabla 1).

Tabla 1. Secuencia de los iniciadores comunes a todas las especies de *Babesia-Theileria* y secuencia de los oligonucleótidos específicos frente *T. annulata, T. buffeli, T. velifera, T. taurotragi, B. bigemina, B. bovis, B. divergens* y *B. major* empleados en el estudio.

Iniciador RLB R*	CTAAGAATTTCACCTCTGACAGT
Iniciador RLB F	GACACAGGGAGGTAGTGACAAG
Oligonucleótido *T. annulata*	CCTCTGGGGTCTGTGCA
Oligonucleótido *T. buffeli*	GGCTTATTTCGGWTTGATTTT**
Oligonucleótido *T. taurotragi*	TCTTGGCACGTGGCTTTT
Oligonucleótido *T. velifera*	CCTATTCTCCTTTACGAGT
Oligonucleótido *B. bigemina*	CGTTTTTTCCCTTTTGTTGG
Oligonucleótido *B. bovis*	CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG
Oligonucleótido *B. divergens*	GTTAATATTGACTAATGTCGAG
Oligonucleótido *B. major*	TCCGACTTTGGTTGGTGT

*Iniciador marcado con biotina
**W indica una A ó una T.
Todos los oligonucleótidos presentan un grupo amino en el extremo 5´

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante la técnica RLB se detectó la existencia de 4 especies diferentes de piroplasmas en el ganado vacuno en la isla de Menorca: *T. annulata, T. buffeli, B. bigemina* y *B. bovis*. La parasitación por las especies de *Theileria*, especialmente *T. buffeli* fue muy elevada. De los 133 animales estudiados 119 (89,5%) estaban parasitados por *T. buffeli*, aunque esta especie es considerada como una *Theileria* apatógena. Sin embargo, la parasitación por *T. annulata*, responsable de la Theileriosis Mediterránea fue también muy importante, 82 animales (61,6%) presentaron esta parasitación. No hubo diferencias entre los tres periodos de muestreo realizados, 31 animales fueron positivos a *T. annulata* en marzo, 26 en junio y 25 en octubre, indicando que la situación de esta parasitosis en la isla es endémica.

La presencia de *B. bigemina* fue observada en 8 animales (6,0%) y la de *B. bovis* en 4 animales (3,0%). Solamente 4 animales (3,0%) en todo el estudio fueron negativos a la presencia de piroplasmas en sangre.

Setenta y tres animales estaban simultáneamente parasitados por *T.*

annulata y *T. buffeli* (54,9% de los animales), cuarenta y seis (34,6%) únicamente presentaron *T. buffeli* y nueve (6,8%) únicamente *T. annulata*. De todos los animales del estudio solamente 5 animales no presentaron ninguna especie de *Theileria*. Los animales parasitados por *B. bigemina* presentaron simultáneamente alguna especie de *Theileria*, mientras que de los animales parasitados por *B. bovis*, un único animal no presentó parasitación por ninguna especie de *Theileria*. Ninguno de los animales presentó las dos especies de *Babesia* conjuntamente.

En conclusión, el ganado vacuno de la isla de Menorca, presenta unas prevalencias de parasitación por piroplasmas muy elevadas, siendo especialmente importante la Theileriosis Mediterránea que presenta una situación endémica. La técnica RLB presentó una elevada sensibilidad y especificidad y permitió la detección e identificación simultánea de todas las especies de *Theileria* y *Babesia* existentes en la isla.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto AG 98-10897-C02-01 CYCIT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Gubbels, J.M., de Vos, A.P., van der Weide, M., Viseras, J., Schouls, L.M., de Vries, E., Jongejan, F. Simultaneous detection of bovine *Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization. J. Clin. Microb., 1782-1789. 1999.

Papadopoulos, B., Perié, N.M., Uilenberg, G. Piroplasms of domestic animals in the Macedonia region of Greece. 1. Serological cross reactions. Vet. Parasitol., 63: 41-56. 1999

Sparagano,O. Molecular diagnosis of *Theileria* and *Babesia* species. J. Vet. Parasitol., 13 (2): 83-92. 1999.

COMPARACION DE LA EFICACIA DE DOS PRUEBAS ELISA PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA BRUCELOSIS OVINA.

Mª Jesús de Miguel, Jose Mª Blasco, Clara Mª Marín
Unidad de Sanidad Animal. S. I. A./ D.G.A. Apartado 727. 50.080 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

El diagnóstico oficial de la brucelosis ovina por *B. melitensis* se realiza mediante las pruebas serógicas de Rosa Bengala (RB) y Fijación del Complemento (FC). Estas pruebas no detectan la totalidad de animales infectados, son complicadas de realizar a gran escala y presentan problemas de falta de especificidad para la diferenciación de animales vacunados con Rev 1 [1, 2]. La prueba de Doble difusión en gel con Hapteno Nativo (DDG-HN) es la prueba más especifica para diferenciar ovinos vacunados de los infectados [3] pero no es una prueba oficial. Los enzimoinmunoensayos (ELISA) están siendo ya considerados como pruebas oficiales por la Unión Europea para el diagnóstico de la brucelosis, pese a que no existen demasiados estudios acerca de su sensibilidad y especificidad en ganado ovino. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la sensibilidad y especificidad del test ELISA indirecto desarrollado y comercializado por la Agencia Internacional de Energía Atómica (ELISA-AIEA) con otro test indirecto puesto a punto en nuestro laboratorio (ELISA- Prt.G), en comparación con las pruebas RB, FC y DDG, en ovejas infectadas por *B. melitensis* y en animales vacunados en distintas condiciones con la vacuna viva Rev 1 de *B. melitensis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los sueros analizados fueron:
- 140 sueros de ovejas con infección natural por *B. melitensis* (83 con *B. melitensis* biovar 1 y 58 con la biovariedad 3). La infección bacteriológica se demostró mediante aislamiento en cultivo de muestras tras la necropsia de los animales.
- 121 sueros de ovejas libres de brucelosis y no vacunadas.
- 351 sueros de animales libres de brucelosis y vacunados con la dosis estándar de *B. melitensis* Rev 1 (10^9 de organismos viables) a los 3-4 meses de edad o a los 14 meses de edad, por vía subcutánea o conjuntival, y tomados a distintos intervalos tras la vacunación (ver tabla 2).

Las pruebas de RB y FC se realizaron en la forma descrita por Alton y col. [4] con la modificación para el diagnóstico en ovejas descrita por Blasco y col. [5]. La prueba de DDG (DDG-NH y DDG-LPS-S) se realizó según el procedimiento descrito por Marín y col. [3]. El ELISA-Prt.G se llevó a cabo según la técnica descrita por Alonso Urmeneta y col.[6]. El ELISA–AIEA se llevo a cabo según los procedimientos del kit comercial suministrado por la Agencia Internacional de Energía Atómica (AIEA, Viena, Austria). Todas las pruebas se realizaron por duplicado.

La sensibilidad y especificidad de las pruebas se calcularon con respecto a los grupos de animales infectados y libres de *Brucella* de la forma descrita por Jones y col. [7]. La sensibilidad óptima en las técnicas ELISA se determinó mediante análisis ROC (Receiver-Operating-Characteristic) con el paquete estadístico SAS (SAS Instutute Inc). La comparación de las pruebas se realizó con una t de Student con Microsoft Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto a la comparación de los tests ELISA, un suero fue considerado positivo, únicamente cuando en los dos análisis repetidos presentaba una D.O. superior al 20 % del control en el ELISA-Proteína G y superior al 10% del control en el ELISA-

Los resultados de sensibilidad y especificidad de las distintas pruebas diagnósticas analizadas con los sueros control se presentan en la Tabla 1. Todas las pruebas resultaron 100 % específicas con los sueros de animales libres de brucelosis. El ELISA-Prt G resultó más sensible (99,57%) que el ELISA-IAEA (93,57%) ($p<0,01$) y la DDG-NH resultó ser la prueba menos sensible (74,29%) ($p<0,001$ frente al RB, FC y los dos ELISA). Los resultados de especificidad de las pruebas analizadas con los sueros de animales vacunados se presentan en la Tabla 2. La especificidad de todas las pruebas serológicas aumenta cuando la vacunación se realiza por vía conjuntival, sobre todo, en animales jóvenes. Como ya hemos confirmado en otros estudios similares (3) la DDG-NH resultó ser la prueba más específica. La explicación podría estar en que esta técnica detecta preferentemente anticuerpos de alta afinidad característicos de las infecciones activas (3). Pese a su menor sensibilidad, esta cualidad debería ser tenida en cuenta en determinadas situaciones epidemiológicas. Los datos de especificidad de las dos pruebas ELISA comparadas resultaron muy discordantes. Ello es debido a las diferentes estandarizaciones de los dos tests, que hacen que la mayoría de los sueros que resultaron negativos en el kit ELISA-AIEA, fueron positivos en nuestro ELISA-Prt G a una Densidad Optica muy baja, situada entre el 20-30% de la del suero control. El test ELISA-AIEA es un Kit desarrollado para ganado vacuno, con antígeno obtenido de *B. abortus*, y en el que se utiliza como conjugado un policlonal anti-IgG bovina. Por contra, el ELISA-Prt G usa un antígeno obtenido en *B. melitensis* y un conjugado con Proteína G. Las diferencias en la estandarización, mejor que las diferencias entre antígenos y conjugados mencionadas, podrían explicar la mejor sensibilidad de la técnica ELISA-Prt G para el diagnóstico de *B. melitensis* en ovino. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en ensayos similares [6, 8].

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Blasco, J.M., *et al.*, Journal of Clinical Microbiology, 1994. 32(8): p. 1835-1840.
2. Jimenez-de-Bagüés, M.P., *et al.*, Veterinary Microbiology, 1992. 30: p. 2-3.
3. Marín, C.M., *et al.*,. Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology, 1999. 6(2): p. 269-272.
4. Alton, G.G., *et al.*, *Techniques for the Brucellosis Laboratory*, ed. P. INRA, France. 1988:147, rue de l'Université, 75007 Paris. 190.
5. Blasco, J.M., *et al.*,. Veterinary Record, 1994. 134(16): p. 415-420.
6. Alonso-Urmeneta, B., *et al.*,. Clinical & Diagnostic Laboratory Immunology, 1998. 5(6): p. 749-754.
7. Jones, L.M. and e. al.,. Journal of Clinical Microbiology, 1980. 12(6): p. 753-760.
8. Marín, C.M., *et al.*,. Veterinary Record, 1998. 143(14): p. 390-394.

Tabla 1: Resultados de sensibilidad y especificidad de las pruebas RB, FC, DDG-HN, DDG-LPS-S, ELISA-Prt G y ELISA-AIEA en 140 ovejas con infección natural por *B. melitensis* y 121 ovejas libres de brucelosis.

	Pruebas					
	RB	FC	DDG-NH	DDG-LPS-S	ELISA-Prt G	ELISA-AIEA
Sensibilidad	92,14	88,57	74,29	84,29	99,28	93,57
Especificidad	100	100	100	100	100	100

Tabla 2: Especificidad de las pruebas RB, FC, DDG-HN, DDG-LPS-S, ELISA-Prt G y ELISA-AIEA para el diagnóstico de brucelosis con sueros de ovejas vacunadas con Rev 1

				Pruebas					
Edad de la vacunación	Vía de la vacunación	Semanas tras la vacunación	Número de animales analizados	RB	FC	DDG - HN	DDG - LPS-S	ELISA -Prt G	ELISA - AIEA
3 meses	Subcutánea	4	11	0	0	0	0	0	81,8
		7	21	0	9,5	52,4	0	0	76,2
		16	20	25	60	95	0	0	20
		19	11	0	76,2	100	0	0	45,5
		25	21	38,1	76,2	100	28,6	9,5	38,1
	Conjuntival	3	25	8	68	100	24	8	92
		4	11	18,2	36,4	100	54,5	9,1	100
		8	24	25	87,5	100	55	20,9	87,5
		16	25	88	100	100	96	56	36
		25	11	90,9	100	100	100	90,9	100
14 meses	Subcutánea	4	30	0	6,7	70	0	0	64
		17,5	29	17,2	55,2	86,8	20,7	0	41,4
		21,5	28	14,7	39,3	89,7	50	0	60,7
	Conjuntival	4	28	0	0	100	14,3	0	71,4
		17,5	28	64,3	67,9	92,9	82,2	25	50
		21,5	28	67,9	71,4	100	75	21,4	60,7

* Especificidad expresada como porcentaje de negativos

DESARROLLO METODOLÓGICO PARA LA UTILIZACIÓN DE LA PISTOLA DE GENES EN LA INMUNIZACIÓN FRENTE AL VIRUS MAEDI VISNA EN OVINOS RASA ARAGONESA

B. González[1], L. Luján[2], S. Andrés[1], R. Reina[1], D. De Andrés[1], A. Vargas[2], J.J. Badiola[2], B. Amorena[1].

[1] CSIC-SIA. Avda. Montañana 930, 50016 Zaragoza; e Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales (CSIC-UPNA) 31006 Pamplona
[2] Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. C/Miguel Servet 177. 50016 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

Las vacunas ADN consisten en la introducción directa de ADN plasmídico que codifica una proteína antigénica. Ésta se expresa dentro de las células del organismo, lo que conduce a la aparición de respuestas inmunológicas intensas frente a los microorganismos que producen dicha proteína. Las respuestas inmunes incluyen no sólo la formación de anticuerpos y la activación de células T con secreción de citocinas, sino también la producción de linfocitos T citotóxicos (CTL). Entre los distintos métodos de inoculación de ADN, el método de la pistola de genes tiene importantes ventajas respecto a métodos tradicionales de vacunación con ADN (inoculación intramuscular, intradérmica y subcutánea), al requerir una menor cantidad de inóculo. Sin embargo, las condiciones de inoculación dependen de varios factores, entre otros, el grosor de la piel del animal, el cual puede variar entre especies y entre razas. Según la bibliografía reciente, se ha aplicado la pistola de genes con éxito en el mundo vegetal (1) y empieza a ampliarse su uso a animales de experimentación (2) y especies ganaderas (3). Algunas de las ventajas de esta metodología son las de: ser de aplicación rápida y versátil; ser independiente del tipo de célula diana; ser útil para expresión transitoria y fija; necesitar pequeñas cantidades de ADN; prescindir de transportadores de ADN; requerir un bajo número de células; admitir altos niveles de cotransformación; poder transferir grandes fragmentos de ADN; transportar ADN de forma directa intracelular a muchas células en el área diana; ser aplicable a transformación *in vitro* e *in vivo*; y no transportar genes o proteínas extrañas. El propósito de esta investigación es el desarrollo de la metodología de la utilización de la pistola de genes para programas de inmunización con el virus Maedi Visna (VMV) ovino en ovejas Rasa Aragonesa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Principio de la técnica. El ADN se precipita sobre partículas de oro, que son aceleradas utilizándose gas helio para su propulsión a velocidad suficiente como para penetrar en las células diana de la epidermis. Utilizando dicho método en este estudio, los antígenos codificados por el ADN plasmídico conteniendo una región genómica del VMV fueron expuestos al tejido linfoide asociado a la piel, rico en células de Langerhans presentadoras de antígenos. El procedimiento de inmunización se basó en el aplicado en la Universidad de Edimburgo (Dr. Craig Watkins, comunicación personal).

Descripción de la tecnología desarrollada. Se utilizaron plásmidos de expresión eucariótica producidos en el CNB de Madrid (CSIC, equipo del Dr. M. Esteban), que contenían el gen **env** del virus VMV (plásmido-env) y, como control, plásmidos sin el gen **env** del VMV (plásmido-lacZ). Para preparar la suspensión de ADN y oro, se añadió a 20 mg de oro (0,5 mg de oro/célula diana) 100 µl de espermidina 0,05 M y a esta mezcla, 200 µg de ADN (concentración final de ADN 10 µg/mg de oro, 5 µg/disparo). Para permitir la precipitación del ADN sobre el oro, se añadió 100 µl de cloruro cálcico 1 M y se lavó cuatro veces con etanol, para quedar el sedimento al final resuspendido en 2,4 ml (conteniendo

polivinilpirrolidona (PVP) disuelta en etanol a una concentración final de 0.05 mg/ml). Durante la preparación de la muestra, se introdujo el tubo del que se obtendrían los futuros cartuchos en la Tubing Prep Station (instrumento donde se preparan los cartuchos) y se secó por acción de un flujo de Nitrógeno durante 30 minutos. Utilizando una bomba de vacío, se inoculó la muestra por aspiración en el tubo ya seco y tras aspirar el solvente de la misma, se logró un depósito de partículas de oro homogéneamente distribuidas en las paredes del tubo mediante sucesivas rotaciones de éste con y sin flujo de nitrógeno. Tras cortar el tubo en cartuchos de idénticas dimensiones, éstos se almacenaron a 4°C con un desecador durante varias semanas hasta el inicio de las inmunizaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para averiguar si el ADN había precipitado sobre el oro de manera correcta y si junto con el oro había sido bien distribuído por los cartuchos, se determinó su absorbancia en un espectrofotómetro utilizando cartuchos control. Para ello, se añadió TRIS-EDTA (TE) por el interior de los cartuchos 3 veces, y tras sucesivas centrifugaciones se recogió el sobrenadante que contenía el ADN. Se midió la absorbancia de cada muestra diluida a 1:35, detallándose los resultados en la Tabla 1.

Tabla 1. Absorbancia de las muestras obtenidas a partir de los cartuchos y concentración final de ADN por cartucho.

	A_{260}	A_{260}/A_{280}	Concentración (µg ADN/cartucho)
Cartuchos plásmido lacZ	0,12	1,020	6
Cartuchos plásmido-*env*	0,11	1	5,5
Plásmido lacZ	0,96	1,9	1,2
Plásmido-*env*	0,16	1,8	0,3

Según estos resultados, la proporción A_{260}/A_{280} en el contenido de los cartuchos se encuentra cercana a 1. Esta proporción se considera aceptable en el caso de los cartuchos, debido a la presencia en la muestra de restos de PVP y espermidina utilizados para la preparación de los cartuchos, si bien contrasta con la proporción observada en el ADN original (proporción A_{260}/A_{280} entre 1,8 y 1,9).

Tras la elaboración de los cartuchos, se quiso determinar al nivel histológico las consecuencias de la inmunización con pistola de genes a lo largo del tiempo. Para ello, se eligieron dos ovejas, a una de las cuales (control) se le inoculó plásmido-lacZ y a la otra, plásmido-env. Se colocaron protectores del sonido en los oídos del personal que intervino y se inmovilizaron los animales. A continuación, se rasuró una superficie de unos 70 cm^2 de las patas y se desinfectó con etanol. Tras cargar los cartuchos correspondientes en su soporte, se conectó la pistola de genes con la bomba de Helio, cuya válvula se abrió hasta alcanzar una presión de 600 psi. A continuación, se aplicó la pistola de genes directamente sobre la epidermis del animal intentando mantener un ángulo de 90° y se efectuaron los disparos, todos ellos alrededor de la misma zona.

En cada extremidad se efectuaron 5 disparos administrándose por animal un total de 20 µg de ADN por extremidad (4 µg de ADN/disparo). Las inoculaciones se realizaron 7 días, 72 h, 24 h y 2 h antes de la obtención de explantes de piel. Éstos se incluyeron en una solución de formol tamponado y posteriormente se incluyeron en parafina para su examen histológico. Tras efectuar los disparos sobre la epidermis de la oveja, se observó macroscópicamente una ligera abrasión de la piel causada por el gas a propulsión. Microscópicamente, el estudio histológico mediante la tinción de hematoxilina-eosina reveló lesiones similares en ambos animales. Como se observa en la Figura 1, el tejido obtenido a las 2 h de realizar los disparos presentaba una fuerte hemorragia en la dermis subepidérmica con

congestión y presencia de microtrombos en los vasos. A las 24 h había infiltración difusa neutrofílica de la epidermis con formación de microabscesos observándose, asimismo, una dermatitis superficial aguda que se relacionaba con la presencia de los microabscesos. En todos los casos, las lesiones se relacionaron con la presencia de micropartículas de oro (ver flechas en Figura 1). La epidermis fue regenerándose a partir de las 72 h, observándose la presencia de microabscesos cada vez más pequeños y ya en su capa más superficial. Asimismo, la inflamación dérmica fue resolviéndose y sólo se observaban algunas micropartículas de oro en la dermis. A los 7 días de realizar los disparos, la epidermis, ya sin microabscesos, estaba ligeramente engrosada (lesión conocida como hiperplasia epidérmica) sólo en algunos puntos y se observaba una ligera dermatitis perivascular. La presencia de micropartículas de oro era ya muy limitada.

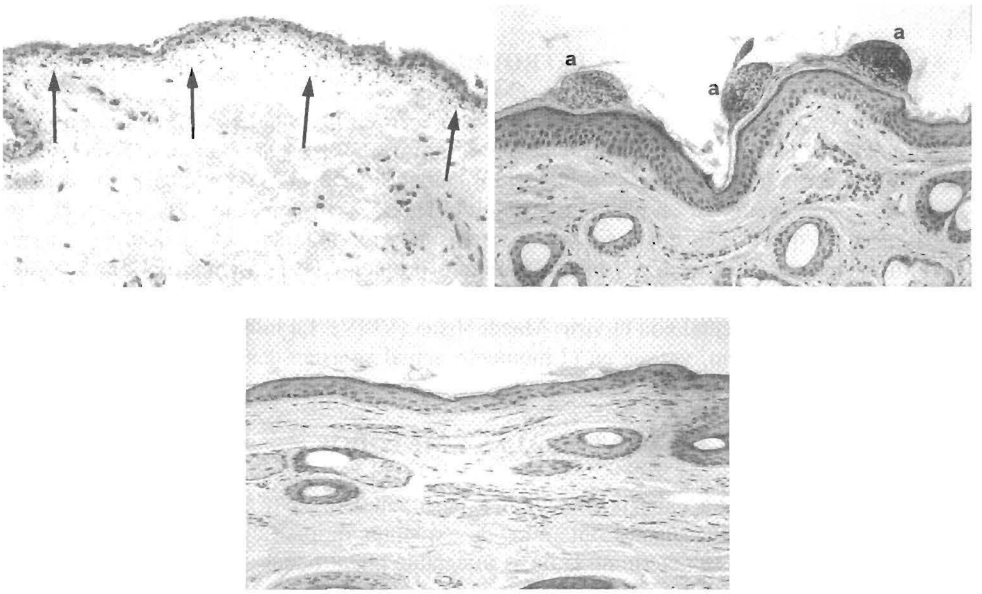


Fig. 1. Preparación histológica de la epidermis 2 h (izquierda), 72 h (derecha) y 7 días (abajo) tras someter al animal a la inmunización con pistola de genes. (Oro: →; absceso: a).

En suma, las ovejas se recuperaron con facilidad de la inmunización con pistola de genes. Este grupo de trabajo está evaluando en la actualidad una estrategia de vacunación con ADN frente al VMV utilizando la pistola de genes.

AGRADECIMIENTOS.- Nuestro especial agradecimiento al personal encargado del manejo y cuidado de los animales del Servicio de Investigación Agraria de Zaragoza (Enrique Morago, Elías Echegoyen, Fidel Lahoz y colaboradores), a los Dres. Gordon Harkiss y Craig Watkins de la Universidad de Edimburgo, por sus consejos en la utilización de la pistola de genes y al equipo del Dr. M. Esteban. Financiado por INIA (proyectos y becas sobre inmunización frente a VMV), CICYT (AGL2000-1489-C02-01 y 02) y Acción COST 834 de la unión Europea.

REFERENCIAS

1. Sanford, J.C. (1990). Physiol. Plant. 79, 206-209.
2. Johnston, S. A. et al. (1991). In Vitro Cell. Dev. Biol. 27, 11-14.
3. Karger, B. (1996). Int. J. Legal Med. 108 (4), 177-179.

COMPARACIÓN DE DISTINTAS VÍAS DE INOCULACIÓN Y DOSIS VÍRICA NECESARIA PARA PROVOCAR LA INFECCIÓN POR MAEDI VISNA EN OVINOS

B. González[1], L. Luján[2], C. Pacheco[3], S. Andrés[1], R. Reina[1], D. De Andrés[1], J.J. Badiola[2], B. Amorena[1].

[1] CSIC-SIA. Avda. Montañana 930, 50016 Zaragoza; e Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales (CSIC-UPNA) 31006 Pamplona
[2] Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. C/Miguel Servet 177. 50016 Zaragoza
[3] Mutual Cyclops. C/ Ausiasmark 41. 08010 Barcelona.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas que aparecen en los estudios de evaluación de la efectividad de las vacunas es determinar qué dosis infectante y qué vía son adecuadas a la hora de realizar la infección experimental en los animales vacunados (challenge). Lo deseable es lograr una infección en un plazo razonable de tiempo, utilizando una vía de fácil acceso pero que no requiera una dosis del microorganismo excesivamente elevada, pues ésta no permitiría detectar de forma apropiada el efecto protector de la vacuna. El objetivo del presente trabajo es determinar la dosis infectante y la vía de inoculación apropiadas al realizar una infección experimental con el virus Maedi Visna (VMV). La información obtenida es de interés en ganado ovino, ya que en el momento actual se están desarrollando y evaluando vacunas frente a VMV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Antes de llevar a cabo la infección experimental in vivo, se tituló el virus sobre cultivos celulares de fibroblastos obtenidos de explantes de piel, con el fin de conocer su infectividad. Para ello, se determinó la dosis infectante que producía la muerte al 50% de las células en los cultivos ($TCID_{50}$) (1).

Se utilizaron 18 ovejas de la raza Rasa Aragonesa, distribuyéndose 6 animales por cada vía de inoculación (intradérmica, intravenosa e intratraqueal). De acuerdo con los protocolos ya descritos (2), se llevó a cabo la inoculación intradérmica e intravenosa. Al realizar la inoculación intratraqueal, se administró un tranquilizante a las ovejas para posteriormente rasurar y desinfectar el cuello a la altura de la tráquea. Manteniendo la cabeza del animal erguida, se buscó el espacio intertraqueal con los dedos y se inoculó el virus (en un volumen de 1 ml), manteniendo la posición erguida de la cabeza durante unos minutos para evitar la tos del animal.

En cada grupo de 6 animales, dos ovejas recibieron una dosis de 20 $TCID_{50}$, dos recibieron una dosis de 200 $TCID_{50}$ y dos recibieron una dosis de 2000 $TCID_{50}$.

Tras la inoculación del VMV, se tomaron muestras de sangre semanalmente a los animales para la realización de las pruebas serológicas de inmunodifusión en gel de agar (AGID) y ELISA. Asimismo, se evaluó la carga vírica en sangre, utilizándose la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que permite la detección del genoma vírico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los resultados expuestos en la Tabla 1, en el caso de inoculación intradérmica no se obtuvo ninguna respuesta humoral en ELISA al cabo de 6 meses, por lo que dicha vía

quedó desestimada. Por vía intravenosa, la respuesta humoral apareció sólo en uno de los animales y no antes de 2 meses, tras la inoculación tanto de 2000 $TCID_{50}$ como de 200 $TCID_{50}$. Así, los resultados obtenidos por esta vía eran variables, por lo que la dosis a inocular debería ser de 2000 $TCID_{50}$ o mayor para asegurar la infección, con el consiguiente riesgo de que fuera excesiva y los animales se infectaran antes de poder determinar el efecto de la vacunación. En cuanto a la vía intratraqueal, rápida inductora de respuesta inmunitaria (3), los anticuerpos circulantes aparecieron en sólo 1 semana en el caso de la dosis más alta.

Tabla 1. Comparación por ELISA de la precocidad de seroconversión al realizar la inoculación vírica por distintas vías.

	Dosis	*Período mínimo transcurrido para la aparición de anticuerpos post-inoculación (post-challenge)*
Intradérmica	2000 $TCID_{50}$	> 24 semanas
	200 $TCID_{50}$	> 24 semanas
	20$TCID_{50}$	> 24 semanas
Intravenosa	2000 $TCID_{50}$	8 semanas
	200 $TCID_{50}$	8 semanas
	20$TCID_{50}$	> 24 semanas
Intratraqueal	2000 $TCID_{50}$	1 semana
	200 $TCID_{50}$	2 semanas
	20 $TCID_{50}$	> 8 semanas

Como puede observarse en la Tabla 2, en la que se ilustra la evolución serológica tras la inoculación intratraqueal, se detectaron anticuerpos antes con la técnica ELISA que con el AGID, ya que aquélla es más sensible que esta última (4, 5), obteniéndose una positividad continuada desde el momento en el que el animal seroconvirtió. En lo que respecta a la dosis más adecuada para inocular por vía intratraqueal, ésta podría ser de 200 $TCID_{50}$, dosis a la cual las ovejas presentan anticuerpos circulantes entre las 2 y las 6 semanas tras la inoculación. Dosis mayores (2000 $TCID_{50}$) podrían provocar una aparición de anticuerpos muy rápida, detectable en el test ELISA, pero dichas dosis podrían ser excesivas a la hora de evaluar las vacunas. Dosis menores de 200 $TCID_{50}$ no permitirían la detección de anticuerpos séricos antes de, al menos, 2 meses tras la inoculación.

Tabla 2. Respuesta serológica a lo largo de dos meses obtenida a distintas dosis infectantes ($TCID_{50}$) por vía intratraqueal, según los análisis de precipitación en gel de agar (AGID) y ELISA.

AGID

Dosis ($TCID_{50}$)	Oveja	1 sem. p.i.	2 sem. p.i.	3 sem. p.i.	4 sem. p.i.	5 sem. p.i.	6 sem. p.i.	7 sem. p.i.	8 sem. p.i.
2000	2024	-	-	-	-	-	dudoso	dudoso	dudoso
2000	2044	+	+	+	+	+	+	+	+
200	9012	-	+	+	+	+	+	+	+
200	1060	-	-	-	-	-	-	-	-
20	6918	-	-	-	-	-	-	-	-
20	7830	-	-	-	-	-	-	-	-

ELISA

Dosis ($TCID_{50}$)	Oveja	1 sem. p.i.	2 sem. p.i.	3 sem. p.i.	4 sem. p.i.	5 sem. p.i.	6 sem. p.i.	7 sem. p.i.	8 sem. p.i.
2000	2024	+	+	+	+	+	+	+	+
2000	2044	+	+	+	+	+	+	+	+
200	9012	-	+	+	+	+	+	+	+
200	1060	-	-	-	-	-	+	+	+
20	6918	-	-	-	-	-	-	-	-
20	7830	-	-	-	-	-	-	-	-

En conclusión, estos resultados indican que la precocidad en la aparición de anticuerpos tras la inoculación del VMV es dependiente de la dosis infectante (a mayor dosis mayor precocidad), la vía de inoculación (la intratraqueal es más efectiva que la intravenosa y ésta lo es más que la intradérmica) y de la sensibilidad del test utilizado para determinar la aparición de anticuerpos frente al microorganismo infectante (ELISA es más sensible y detecta seroconversión más precozmente que AGID) (4, 5).

Por tanto, en las condiciones de este experimento, la utilización de la vía intratraqueal con una dosis infectante de 200 $TCID_{50}$, la aplicación un test ELISA para la detección de la respuesta serológica en lugar de AGID y la realización de un ensayo de PCR parecen ser potencialmente válidos para llevar a cabo un challenge con VMV y a la hora de evaluar las respuestas en la inmunización frente a dicho virus.

AGRADECIMIENTOS.- Nuestro especial agradecimiento al personal encargado del manejo y cuidado de los animales del Servicio de Investigación Agraria de Zaragoza (Enrique Morago, Elías Echegoyen, Fidel Lahoz y colaboradores). Financiado por INIA (proyectos y becas sobre inmunización frente a VMV), CICYT (AGL2000-1489-C02-01 y 02) Acción COST 834 de la unión Europea.

REFERENCIAS

1. Tizard, I. (1995), Inmunología Veterinaria.
2. Current Protocols in Immunology (1995) (vol.1).
3. G. Pétursson, S. Matthiasdóttir, A. H. Martin, V. Andrésdóttir, V. Svansson, S. Torsteinsdóttir. Comunicación oral. International Conference and Workshop on Animal Retroviruses. Cambridge, Septiembre 2000.
4. E. Saman, G. Van Eynde, L. Luján, B. Extramiana, G. Harkiss, F. Tolari., L. González, B. Amorena, N. Watt and J. Badiola (1999). Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology 6, 734- 740.
4. R. Varea, E. Monleón, C. Pacheco, L. Luján, R. Bolea, A. Vargas, G. Van Eynde, E. Saman, L. Dickson, G. Harkiss, B. Amorena and J. Badiola (2001) (en prensa).

IMPORTANCIA DEL CALOSTRO EN LA TRANSMISIÓN DEL MAEDI-VISNA

E. Berriatua, V. Alvarez, J.Arranz*, J. Barandika, M. Geijo. M. Daltabuit y R. Juste
Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER). Sanidad Animal, 48160 - Derio y Agrosistemas y Producción Animal*, 01080 Vitoria-Gasteiz

INTRODUCCIÓN

El Maedi-Visna es una enfermedad de curso lento, progresivo y fatal asociada a la infección de un lentivirus de la familia *Retroviridae*. Su difusión en España es amplia (1, 2), donde las formas clínicas más comunes son la neumonía crónica y la mamitis indurativa. La infección se produce por inhalación de aerosoles (transmisión aerógena) e ingestión de calostro y leche (transmisión lactógena) contaminados con el virus MV, pero se desconoce la importancia relativa de estas rutas (3).

Durante 4-8 años se llevó a cabo en rebaños del País Vasco, una estrategia de control basada en la cría de las corderas de reposición de madres seropositivas a MV con calostro bovino y lactancia artificial para evitar la transmisión lactógena. Se consiguió reducir la prevalecida de MV en algunos rebaños durante el primer año pero la tasa de prevalecida permaneció invariable a partir de entonces. El encalostramiento artificial resultó laborioso y algunos ganaderos indicaron padecer mayor mortalidad perinatal en corderos encalostrados con calostro bovino. Ante estos resultados quedó patente la necesidad de investigar el riesgo de infección asociado a la ingestión de calostro ovino, pues si se demostrase que la prevalencia de infección asociada al calostro es relativamente baja, se podría justificar la cría de los corderos con la madre durante las primeras 24 horas de vida antes de pasar a lactancia artificial. El presente estudio experimental es el primero de dos estudios similares a realizar en dos años consecutivos, para investigar la prevalencia de Maedi-Visna asociada al calostro ovino ingerido en las primeras 24 horas de vida.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio y diseño experimental

Este estudio, de diez meses de duración, comenzó en Enero del 2000 con 119 corderos nacidos en diez días de 79 ovejas del rebaño experimental de NEIKER, donde la prevalencia a MV según ELISA (4) al comienzo del estudio era el 78%.

Al nacimiento se asignó a los corderos experimentales a cinco grupos distintos. Corderos de madres seropositivas se incluyeron de manera aleatoria a los grupos A (25 corderos), B (22 corderos), C (30 corderos) y D (25 corderos), evitando que corderos de la misma madre estuviesen en el mismo grupo. Los corderos de madres seronegativas se asignaron al grupo E (17 corderos). Durante las primeras 24 horas de vida, los corderos de los grupos A y B permanecieron con su madre en el seno del rebaño, a los corderos del grupo A se les permitió mamar normalmente de su madre, mientras que a los corderos del grupo B se les impidió tomar calostro de su madre y se les administró calostro bovino con biberón. Los corderos de los restantes grupos (C, D y E) se separaron de su madre al nacimiento y se llevaron a un edificio aislado del rebaño principal, sin otros ovinos y libre de maedi-visna ("edificio limpio"). A los corderos del grupo C se les se les administró calostro de su madre con biberón, en cambio, a los corderos de los grupos D y E, calostro bovino con biberón. La dosis de calostro fue la misma en todos los grupos que tomaron biberón, de 180 ml/kg de peso al nacimiento en cuatro tomas durante las primeras 18 horas de vida (5). A las 24 horas de vida, se trasladó a los corderos de los grupos A y B al "edificio limpio" y allí se criaron todos los corderos experimentales con leche en polvo reconstituida y pienso compuesto hasta las cinco ó seis semanas de vida y con heno y pienso compuesto a partir de entonces.

Evaluación del estado de infección de MV de los corderos experimentales

Se analizó la presencia de ADN vírico mediante PCR (6) y de anticuerpos anti-MV con la técnica ELISA (4), en muestras de ADN de células blancas y plasma, respectivamente, obtenidas de sangre con EDTA, tomadas de la yugular, al nacimiento y a los 15 días, 30 días, 90 días y 300 días del comienzo del experimento. El ELISA empleado posee una especificidad del 99,3% y una sensibilidad del 99,4%. La especificidad de la PCR es del 100% y la sensibilidad del 78% en animales con infecciones subclínicas y ELISA positivos.

Análisis Estadístico
Para comparar proporciones se empleó la técnica Chi-cuadrado de Yates y el método de Fisher y se tomó un nivel de significancia, $p < 0.05$ para un test doble.

RESULTADOS

Frecuencia de animales PCR positivos
Al nacimiento se observaron corderos PCRs positivos en los grupos A (2/22, 9.1%), B (1/19, 5.3%) y D (1/25, 4.0%) (Fig. 1). A partir de entonces hubo una tendencia al aumento en el porcentaje de corderos PCR positivos en todos los grupos hasta los 90 o 180 días y un descenso después. Sin embargo, en los grupos A, B y E, el porcentaje de corderos PCR positivos no varió significativamente durante el estudio.
El porcentaje acumulado de corderos PCR positivos en cada grupo y muestreo aumentó de manera progresiva y similar en todos los grupos y al final del estudio varió entre el 43,5% (10/23) en el grupo A y el 63,3% (19/30) en el grupo D.

Frecuencia de animales ELISA positivos
No se detectaron anticuerpos en ninguna de las muestras tomadas al nacimiento (Fig. 2). A los 15 días, todos los corderos del grupo C y 20 de 23 corderos del grupo A fueron ELISA-positivos y también se detectaron anticuerpos en 1 cordero en los grupos D y E y en dos corderos del grupo B. A los 90 días el porcentaje de corderos ELISA positivos descendió significativamente en los grupos A y C con respecto al muestreo anterior y no se observaron corderos ELISA positivos en los grupos B y E. A los 180 días el porcentaje de corderos ELISA positivos en el grupo A fue menor que a los 90 días, pero no varió en el grupo C. Finalmente, a los 300 días el porcentaje de corderos ELISA-positivos en el grupo C (56.7%, 17/30) fue superior a la de los grupos A (21.7%, 5/23), D (19,0 %, 4/21), B (4,8%, 1/21) y E (0.0%, 0/15). No se apreciaron diferencias significativas entre los grupos A, B, D y E ($p > 0.05$).

DISCUSION

Los resultados de este estudio indican que la proporción de corderos ELISA positivos a MV a los 10 meses de edad es similar en corderos encalostrados con calostro bovino que en aquellos criados con la madre durante las primeras 24 horas de vida y posteriormente en un ambiente donde los corderos están expuestos a la infección aerógena. También se corrobora la sospecha de que el calostro de ovino es una buena fuente de virus MV, puesto que la proporción de corderos ELISA positivos antes de un año de edad fue al menos el doble en el grupo que tomó calostro ovino con biberón que en los otros grupos.
La mayor tasa de seroconversión en los corderos encalostrados a biberón con calostro ovino (grupo C) comparada con la observada en los corderos encalostrados con su madre (grupo A), podría estar relacionada con: (i) la cantidad de calostro ingerida, mayor para los corderos del grupo C que para los del grupo A, (ii) la administración del calostro al grupo C mediante biberón o incluso por (iii) una cantidad superior de virus y/o presencia de cepas más virulentas en el calostro del grupo C que el calostro del grupo A. Las posibles diferencias en virulencia y la carga infectiva de los calostros maternos está siendo objeto de investigación en estos momentos. En cuanto a la posible relación entre la infección y administración del calostro con biberón, es conocido el riesgo de aspiración de calostro cuando éste se administra mediante biberón. Si esto ocurre con calostro que contiene virus MV, el virus pasaría directamente a los pulmones del cordero y podría quizás facilitarse la infección (3). Respecto a la asociación entre la tasa de infección y la cantidad de calostro administrada, no es posible determinar la dosis de calostro que tomaron los corderos del grupo A de sus madres, pero la dosis administrada a los corderos del grupo C es la recomendada por algunos autores (5) y su encalostramiento fue muy eficiente puesto que todos los animales de este grupo demostraron tener anticuerpos frente a MV a los 15 y 30 días de edad, frente a 20 de 23 corderos del grupo A, a los 15 días de edad. También se detectaron anticuerpos frente a MV en uno o dos corderos de los grupos que tomaron calostro bovino (grupos B, D y E). Estos anticuerpos podrían ser de origen calostral también, por errores en el encalostramiento artificial o alternativamente, podrían ser resultado de infecciones durante los primeros días de vida. El ELISA empleado en este estudio es capaz de

detectar anticuerpos a los 15 días de producirse la infección (LL. Luján, comunicación personal). El porcentaje de corderos PCR positivos al nacimiento fue de hasta el 9.1% en corderos de madres seropositivas, que es superior a la tasa de infección detectada por otros métodos (3), pero similar al 10% detectado por PCR por Brodie y colaboradores para las variantes americanas del virus MV (7). El número de corderos PCR positivos aumentó a partir de entonces y durante los diez meses de experimento se detectó el virus en aproximadamente la mitad de los corderos de cada grupo. Esto refleja la eficacia de la transmisión aerógena del MV (3) y explicaría como ya se ha mencionado, que no se observasen diferencias en la proporción de corderos PCR y ELISA positivos entre el grupo A de corderos encalostrados por su madre y los grupos B, D y E que tomaron calostro bovino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González, L. 1989. Tésis doctoral. Universidad de Zaragoza. Facult. Vet.
2. Luján L. 1991. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, Facult. Vet.
3. Houwers, D. 1985. Petursson & Hoff-Jorgensen, Eds. Kluwer Academic Press.
4. Saman E, van Eynde G, Lujan L, Extramiana B, Harkiss G, Tolari F, González L, Amorena B, Watt N and Badiola J. 1999. Clin. Diag. Lab. Immun. 6: 734-40.
5. Mellor, D and Murray L. 1986. Veterinary Record 118, 352-3
6. Extramiana AB. 1999. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza, Facult. Vet.
7. Brodie,S; Concha-Bermejillo; Koeing; Snowder; DeMartini. 1994. J Inf D. 169, 653.

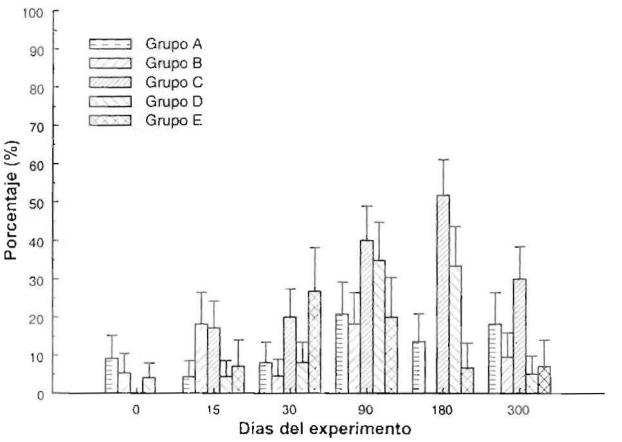
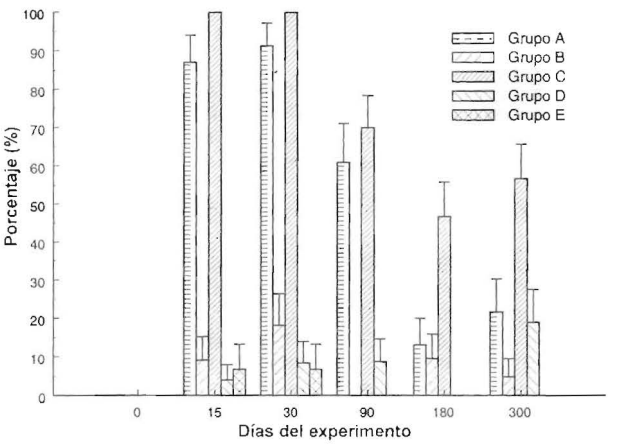


Fig. 1: Porcentaje y errores estándar de corderos PCR positivos en el experimento



ESTUDIO DE LA CONCENTRACIÓN DE IgG EN EL CALOSTRO DE CABRAS DE LA AGRUPACION CAPRINA CANARIA (ACC)

LÓPEZ, J.L., CASTRO, N., CAPOTE, J.F.*,. ARGÜELLO, A.
Unidad de Producción Animal, Universidad de las Palmas de Gran Canaria,
Transmontaña s/n, 35416-Arucas, Gran Canaria, España
*ICIA, Apdo.60, La Laguna, Tenerife, España

INTRODUCCION

Desde 1991 (Fabelo y col., 1992), la Unidad de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria ha venido trabajando primero en la Granja Experimental del Excmo. Cabildo Insular de Lanzarote y posteriormente en las instalaciones propias de la ULPGC a nivel experimental en la aplicación de la lactancia artificial en cabritos de la Agrupación Caprina Canaria (ACC). Tras obtener unos resultados aceptables tanto para los animales destinados al sacrificio como para la reposición, es decir, con una aplicación práctico-económica interesante dada la vocación lechera de la ACC, se plantea en profundidad el estudio del poder inmunizante del calostro, ya que nuestras experiencias nos han conducido a la separación lo más precoz posible de madre e hijo, con lo cual se anula o mitiga en gran medida el vínculo materno-filial que se establece en las primeras horas postparto (Ramírez y col., 1996), facilitando la aceptación de las tetinas de amamantamiento y conducta de succión.

MATERIAL Y METODOS

Para la realización de la presente experiencia se utilizaron 60 cabras pertenecientes la ACC (Variedad majorera) explotadas bajo condiciones intensivas. El manejo reproductivo fue mediante sincronización de celos con esponjas vaginales y tratamiento corto (11 días) sin utilización de PMSG. Muestras de 300 ml de calostro se obtuvieron de ambas mamas en el momento del parto, y posteriormente con una periodicidad de 12 horas hasta las 132 horas del mismo. Sobre dichas muestras se determinó la concentración de IgG mediante la técnica de la inmunodifusión radial (Mancini y col., 1965). Se utilizó el paquete estadístico SPSS v.10 y se trataron los datos mediante un GLM con tres factores de variación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Como se sabe, el poder inmunitario del calostro a través del aporte de inmunoglobulinas es una de sus principales cualidades, y por ello, se hace necesario un estudio cuantitativo y evolutivo a fin de poder hacer un mejor encalostrado de los animales. El trabajo se centra en la concentración de IgG, debido a que se trata de la inmunoglobulina predominante, cifrándose entre el 80 y 90% del total de las inmunoglobulinas presentes en el calostro (Klaus y col., 1969; Neubauer y Schöne, 1979).

En la Gráfica 1 y Tabla 1 se representa la evolución y los valores en el tiempo de IgG en mg/ml de calostro durante los cinco primeros días postparto. Analizando ésta, comprobamos que se ajustaba mejor a una función exponencial que a una cuadrática, siguiendo la expresión matemática:

$$IgG\ mg/ml = 28.98\ e^{-0.0261\ t} \qquad r^2 : 0.97\ (p<0.001).\ t: \text{horas postparto}$$

Valores y evolución semejantes (45 mg/ml al parto y cercanos al 0 al tercer día) a la ACC fueron descritos por Linzell y Peaker (1974) en un estudio sobre la evolución del calostro pre y postparto en cabras entre 2 y 9 años. Posteriormente, Ubertalle y col. (1987) trabajando con cabras Saanen y Camosciata citan también valores próximos a la hora del parto (52 mg/ml), pero bastante inferiores a las 24 h (3.6 mg/ml *vs* 16.2 mg/ml). En el caso de la raza Nubiana (Chen y col., 1998) los valores son claramente superiores a los de la ACC tanto en el momento del parto

(72 *vs* 36 mg/ml), como a las 36h (18 *vs* 10 mg/ml) y a las 132h (4.6 *vs* 1.3 mg/ml). Valores de 126 mg/ml al parto y de 34 mg/ml a las 12 horas del mismo fueron citados por Dos Santos y col. (1994) trabajando con cabras rústicas brasileñas:.

Vistos estos valores se podría afirmar que aquellas razas seleccionadas para la aptitud lechera presentan inferiores tasas de IgG por ml de calostro, lo que no implica que la producción total de inmunoglobulinas sea menor, ya que la producción total de calostro es generalmente mayor.

Las cifras máximas encontradas en la bibliografía para la concentración de IgG calostral son de 134 mg/ml (Ha y col., 1986) y 79 mg/ml (Chen y col., 1998), pareciendo que cuanto más alta es la concentración inicial, más alta es la persistencia en la curva de descenso de la IgG. En la presente experiencia confirmamos esta aseveración, dado que existen diferencias estadísticamente significativas ($P<0.015$) para el porcentaje de representación a las 12 horas entre animales con una concentración inicial mayor a 26.6 mg/ml (92.49%) y aquellos con una concentración menor (55.7%). Este hecho fue sugerido por Ferrer y col. (1997) si bien estos autores pensaban que se trataba de una característica del ganado caprino.

Se dispone de escasa bibliografía en referencia al efecto que la prolificidad ejerce sobre el nivel de IgG en el calostro caprino. Como se muestra en la Tabla 1, no se observan diferencias estadísticamente significativas, pero sí una tendencia a niveles superiores de IgG en animales de parto simple. En ganado ovino Pattinson y col. (1991), trabajando con ovejas de raza Cambridge, tampoco observaron efecto de la prolificidad o del peso al nacimiento de las crías sobre la concentración calostral de IgG.

La edad del animal, que en ganado caprino está muy relacionada con el número de lactación (Tabla 1), no parece presentar efecto significativo sobre la concentración de IgG calostral en ningún momento del estudio, lo que concuerda con lo citado por Dos Santos y col. (1994). Por el contrario, Ha y col. (1986) trabajando con cabras nativas coreanas sí observaron que la concentración de IgG en calostro de cabras primíparas era menor que en multíparas. Las referencias a este respecto en ganado vacuno son mucho más abundantes y casi todas en el sentido que la concentración en IgG calostral es mayor conforme avanza el número de lactación (Kruse, 1970; Oyeniyi y Hunter, 1978).

No hemos encontrado referencia bibliográfica alguna en rumiantes sobre el efecto que pudiera tener la presencia o ausencia de la cría o crías en la concentración y mantenimiento de la IgG calostral. En el presente estudio (Tabla 1) tampoco se manifiesta, lo que corrobora un trabajo previo realizado en la ACC por Argüello y col. (1998b). El único aspecto destacable, aunque no de forma estadística, es que si bien en las primeras 12 horas los animales con cría mantuvieron prácticamente constante la concentración de IgG (30 mg/ml), los animales sin cría manifestaron un descenso muy pronunciado (38 a 22 mg/ml, es decir una disminución del 42%), para igualarse a las 24 horas y mantenerse muy semejante durante todo el periodo de estudio. Así a expensas de corroborar este hecho en otras razas caprinas, podríamos decir que la presencia de la cría parece no estimular a la madre, ni positiva ni negativamente en cuanto a la concentración de IgG. Este hecho lo consideramos de especial importancia, dado que en el manejo actual de lactancia artificial recomendamos la separación temprana del cabrito de su madre para evitar el establecimiento de la relación materno-filial, facilitando su manejo y no afectando en principio la calidad del calostro producido por estas madres.

En conclusión observamos que es el tiempo el principal factor que afecta a la concentración calostral de IgG, factor a tener muy en cuenta a la hora del manejo del encalostrado en la realización de la lactancia artificial.

REFERENCIAS

Argüello, A.; Mayáns, S. y López, J.L. 1998. Cabildo Insular de Tenerife, 26 pp.
Chen, J.C.; Chang, C.J.; Peh, H.C. y Chen, S.Y. 1998. S. Rum. Research, 31: 67-73.

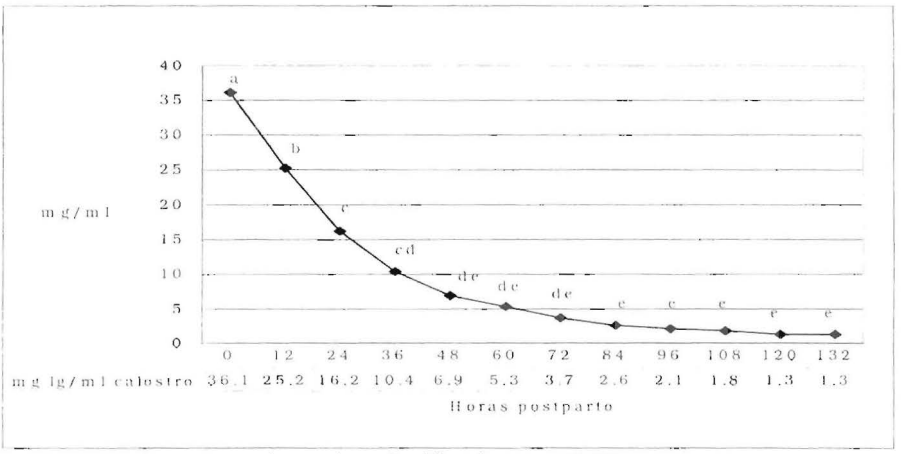
Dos Santos, G.T; Bartolini, D.A.; Macedo, F.; Prado, I.; Martins, E. 1994. Arquivos Biologicos y tecnológicos, 37(2): 285-292.
Fabelo, F.; López, J.L. y Argüello, A. 1992. O Médico Veterinário, 32:48-50.
Fahey, J.L. y McKelvey, E.M. 1965. Journal Immunology, 94: 84.
Ferrer, O.; Real, F.; Molina, J.M.; Acosta, B.; Muñoz, M.C. y León, L. 1997. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 20(3): 253-260.
Ha, W.K.; Lim, J.W. y Choi, C.K. 1986. Korean J. Animal Sciences, 28(10): 679-683.
Klaus, G.G.B.; Bennett, A. y Jones E.W. 1969. Immunology, 16: 293-299.
Kruse, V. 1970. Animal Production, 12: 627-638.
Linzell, J.L. y Peaker, M. 1974. Journal Physiology, 24:129-151.
Mancini, G.; Carbonara, A.O. y Heremans, J.F. 1965. Immunochemistry, 2: 235.
Neubauer, H.P. y Schöne, H.H. 1979. American J. Vet. Research, 7(40): 962-965.
Oyeniyi, O.O. y Hunter, A.G. 1978. Journal of Dairy Science, 61 (1): 44-48.
Pattinson, S.; Davies, D.A.R. y Winter, A.C. 1991. Animal Production, 52: 583.
Ramírez, A.; Quiles, A.; Hevia, M. L.; Sotillo, F. y Ramírez, M. C. 1996. Small Ruminant Research, 23: 75-81.
Ubertalle, A.; Ladetto, G ; Cauvin, E. y Mazzocco, P .1987. Summa, 4: (4), 239-242.

Tabla 1. Evolución de la concentración de IgG en las primeras horas postparto, en función de la prolificidad, número de lactación y relación materno-filial

	Prolificidad		Número de lactación		Tipo de relación	
Horas	Simple	Múltiple	Primera	Posteriores	Con cría	Sin cría
n	27	33	22	38	25	35
0	46.15±24.10	30.81±17.52	39.88±23.18	34.24±19.51	32.01±9.12	37.98±24.14
12	26.07±11.27	24.38±11.98	24.99±14.44	25.27±9.11	29.53±12.22	21.62±10.21
24	17.05±8.11	15.63±9.64	18.53±9.80	13.25±6.93	17.13±10.31	15.52±8.10
36	8.89±6.57	10.71±7.25	9.61±6.19	10.70±7.92	12.02±8.92	9.08±5.14
48	8.31±5.22	5.88±4.04	6.72±5.34	6.55±4.09	6.89±4.56	6.86±4.97
60	5.92±4.39	4.78±4.23	5.09±3.89	5.43±4.68	5.13±4.56	5.43±4.28
72	4.25±2.55	3.21±2.98	3.42±2.86	3.64±3.03	4.17±3.49	3.36±2.73
84	3.55±2.57	2.06±2.16	2.20±1.67	2.85±2.79	2.67±3.01	2.55±1.69
96	2.86±3.11	1.73±2.02	1.73±2.10	2.45±2.80	2.24±3.07	2.06±1.84
108	1.76±1.02	1.84±1.76	1.82±1.60	1.84±1.60	1.55±1.56	2.07±1.51
120	1.60±0.78	1.20±1.17	1.43±1.24	1.27±0.95	1.07±1.04	1.56±1.04
132	1.30±0.60	1.20±1.30	1.04±0.85	1.33±1.29	1.27±1.59	1.32±0.66

Media± desviación estándar

Gráfica 1. Evolución de la IgG en mg/ml en las 132 primeras horas postparto.



Letras diferentes indican diferencias significativas $p < 0.05$.

FACTORES EXPLICATIVOS DE LA VARIABILIDAD EN LA APARICION DE REACCIONES POSITIVAS AL TEST CALIFORNIA Y ALTOS RECUENTOS DE CELULAS SOMATICAS EN GANADO BOVINO LECHERO

Pajares, G[1]., Santos, B[2]., López, S[3]., Díez, J[4]., Fernández, I[4]., Menéndez, J[5]., Goyache, F[4].
[1]Consejería de Medio Rural y Pesca, Luarca (Asturias); [2]CAPSA, Granda-Siero (Asturias); [3]Centro de Inteligencia Artificial, Campus de Viesques, Gijón (Asturias); [4]CENSYRA-SERIDA, C/ Camino de los Claveles 604, Gijón (Asturias) felixgg@princast.es; [5]ASCOL, Polígono de ASIPO, Llanera (Asturias)

INTRODUCCION

En los últimos años han ido surgiendo iniciativas dirigidas a la síntesis de pautas de actuación para la construcción de sistemas de ayuda para la toma de decisiones de manejo en rebaños lecheros (Hogeveen et al., 1991). Estos sistemas de ayuda tienen especial interés respecto de la mamitis bovina (Allore et al., 1995). El proyecto CICYT-FEDER-1FD97-0995-C03-03 prevé el desarrollo de un sistema de apoyo a las decisiones de manejo orientado a la síntesis de pautas de actuación en el manejo de los rebaños para la prevención de la mamitis mediante tecnologías de Inteligencia Artificial. Las pautas sintetizadas serán integradas en una herramienta informática soportada en Internet capaz de asesorar al ganadero tanto en lo concerniente a las características de la infraestructura más adecuada para su instalación como a los hábitos de manejo, los criterios de desvieje o las condiciones sanitarias, higiénicas o medioambientales que tienen una incidencia mas notable en la aparición de altos recuentos de células somáticas.

Para la consecución de esos objetivos se plantea el análisis de datos de campo obtenidos mediante la realización de una encuesta de puntos críticos en explotaciones comerciales sometidas a control lechero oficial, gestionado por ASCOL S. Coop., y al Programa de Mejora de la Calidad de la Leche del Principado de Asturias en colaboración con CAPSA S.A.. El objetivo de la presente comunicación es realizar un análisis estadístico preliminar que permita apuntar los factores más relevantes que expliquen la aparición de altos recuentos de células somáticas y que permitan la organización de los datos en grupos homogéneos sobre los que sea posible aplicar sistemas de aprendizaje automático.

MATERIAL Y METODOS

Se ha realizado una encuesta de puntos críticos en 71 explotaciones comerciales de ganado bovino Frisón Español sometido a control Lechero Oficial. Las explotaciones controladas constaban de un total de 2.407 reproductoras. A 685 de las reproductoras se les consideró sospechosas de presentar mamitis subclínica, presentando algún grado de positividad a la realización del Test California 469 de ellas. Los datos se han obtenido entre junio y noviembre de 2000. Se han acumulado en la base de datos todos los controles productivos y diagnósticos realizados en periodo de encuesta. La encuesta de puntos críticos se realizó por veterinarios colaboradores del Programa de Mejora de la Calidad de la Leche, recogiendo la identificación de la explotación y 13 variables definitorias de las condiciones estructurales y de manejo de las explotaciones: el Tipo de estabulación (TE), libre o de plaza fija, el Tipo de cama (TC), con 5 niveles, Tipo de ordeño (TO), en cántara, sala o directo, Número de puntos de ordeño (PO), Número de operarios (NO), Número de vacas en ordeño simultáneamente (NV), aplicación de un Orden de ordeño (OO), realización de *StripCap* (SC), secado mediante Papel (P), realización de *Predipping* (BA), Desinfección de pezones tras el ordeño (DP), tipo de Desinfección de la cama (DC), en 5 niveles, y la realización de Tratamiento de secado (TS). La encuesta comprendía, además la identificación individual de las vacas en ordeño, y, no en todos los casos, la calificación de la línea de ordeño (en alta, media o baja), la duración del ordeño, y una calificación subjetiva del estado de

limpieza de los animales (de 1 -máxima limpieza- a 5 -mínima limpieza-) y del tipo de manejo en el secado (brusco o alterno). A partir de los datos de Control Lechero, se obtuvieron los controles correspondientes al período de encuesta de las vacas integrantes de las explotaciones estudiadas, que constaban de: Número de Lactación (NL), Número control de producción (NC), Horario de control, Número de litros producidos (LL), Porcentaje de grasa (PG), Porcentaje de proteína (PP), Recuento de células somáticas (RCS), Porcentaje de urea (PU), así como el *Linear score* (LS) calculado como el logaritmo decimal de RCS. Las vacas consideradas sospechosas por ganaderos o veterinarios fueron sometidas a un Test de California en cada uno de sus cuarterones. El resultado del Test de California se calificó de 1 a 4 según la intensidad de la reacción. A partir de estos análisis las vacas de las explotaciones estudiadas se calificaron como Sana, Sospechosa-Negativa, y Sospechosa-Positiva (SS). Se conoció el número de pezones afectados (PA) y el grado de afectación (GA) mediante la suma de la puntuación obtenida en los Test California. Se ha realizado un análisis de componentes principales mediante el paquete estadístico SAS (1997) para determinar el número de variables independientes que recogen la mayor parte de la varianza en la base de datos creada. El análisis de componentes principales se realizó a partir de la matriz de correlaciones entre las variables. Se han seleccionado solamente los factores que presentaban autovalores ≥ 1 para asegurar que recogían mayor varianza que cualquier carácter de tipo individualmente. Los factores seleccionados se han sometido al método de rotación VARIMAX. Asimismo se han realizado diversos análisis de contraste de hipótesis, análisis de varianza y análisis de regresión.

RESULTADOS Y DISCUSION

El análisis de componentes principales es una metodología estadística utilizada para la identificación de variables que afectan a los parámetros más importantes de sanidad, manejo, producción y reproducción de la explotaciones de ganado lechero (Enevoldsen, 1996). En ese sentido se ha considerado como una técnica eficaz para la identificación de indicadores de las condiciones de aparición de mamitis bovina. La interpretación subjetiva y denominación de los factores calculados ayuda a la interpretación y comunicación de los resultados del análisis. Se han seleccionado 9 factores con autovalor ≥ 1 (Tabla 1). Los 9 factores seleccionados explicaron el 66% de la varianza observada. El primer factor recoge fundamentalmente variables de estructura de la explotación, ligada prácticas de ordeño. El segundo reúne las variables que caracterizan la producción lechera individual. El tercero caracteriza los resultados del Test California. El cuarto tiene en cuenta el recuento de células somáticas ligado a la producción de leche de la vaca. Estos cuatro primeros factores acumulan el 40% de la varianza observada. El quinto factor caracteriza las condiciones de ordeño ligadas al número de vacas y su hacinamiento. El sexto tiene en cuenta la sistemática de ordeño-secado. El séptimo caracteriza el grado de atención que puede recibir una vaca en la explotación. El octavo caracteriza la atención y sistemática en el ordeño. El noveno recoge variables de producción y alimentarias. El grado de limpieza y el tipo de línea de leche, parecen afectar al RCS de forma muy significativa. El RCS (en miles de células somáticas por ml) medio en las instalaciones con grado de limpieza igual a 1 es de 237; este valor se eleva a 271 en las que tienen grado 2 y a 343 en las de grado superior o igual a 3. Aunque el número de explotaciones con grado 5 es pequeño y no pueden ofrecerse por el momento datos estadísticamente fiables, podemos citar que la media en este caso es de 516. Asimismo, altos RCS parecen estar asociados a las vacas con producción más baja sin que pueda justificarse este hecho por encontrase las producciones más bajas en animales viejos o en controles más avanzados de lactación, ya que la distribución de edades de las vacas o de números de los controles productivos no se separa de la hipótesis nula en explotaciones y animales con medias de RCS bajas, medias o altas. No obstante, conviene resaltar que el 91 % de los controles corresponden a vacas con 6 o menos lactaciones. Dado que existe una correlación negativa significativa entre la producción y el número de control, parece razonable concluir que el problema no está en la duración de la

lactación sino en la reducción de la producción por debajo de un umbral que en este momento podríamos situar aproximadamente en los 15 litros por control. La base de datos disponible caracteriza correctamente las variables a tener en cuenta para el control de las mamitis bovinas y la mejora de la calidad de la leche (Corrales y Areán, 1999). De su análisis podrán desprenderse perfiles individualizados que permitan a los ganaderos tomar decisiones de manejo en relación con las características de la explotación. Los resultados anteriores han de considerarse como preliminares, dejando las conclusiones definitivas a expensas de ordenar adecuadamente los datos para generar diseños muestrales bien estructurados y con tamaños adecuados con el fin de evitar que un número excesivo de datos pueda hacer estadísticamente significativas algunas diferencias que en términos reales del problema carecen de relevancia. No obstante, cabe suponer que hay influencia de factores ligados a las condiciones medioambientales, a la infraestructura y a la producción. Una vez determinados con precisión estos factores esenciales, el aprendizaje automático nos permitirá combinarlos e inducir los criterios de manejo más adecuados para minimizar los recuentos de células somáticas en explotaciones comerciales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Allore et al., 1995. J Dairy Sci, 78: 1382-1398; **Corrales, J.C., Areán, H**: 1999. *Mamitis Bovina*, CGCVE, Vol XXVII, 160pp. **Enevoldsen** et al., 1996. J Dairy Sci, 79: 1221-1236. **Hogeveen** et al., 1991. J Dairy Sci, 74: 4377-4384. ;**SAS**, 1997. User's Guide. SAS Institute Inc, Cary NC.

Tabla 1: Autovectores, autovalores y proporción de varianza explicada para cada uno de los factores seleccionados (autovalor ≥ 1). En negrita se encuentran los autovectores > |0,260|

Variable	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5	Factor 6	Factor 7	Factor 8	Factor 9
NL	0,029	**-0,297**	0,045	**0,344**	-0,188	0,124	-0,003	-0,019	**0,505**
NC	0,054	**0,793**	0,040	0,023	0,027	0,010	0,001	0,074	0,047
LL	0,171	**-0,767**	0,047	-0,054	0,065	-0,112	0,071	0,043	0,036
PG	0,049	**0,361**	-0,074	0,080	0,004	-0,005	0,094	-0,099	**0,507**
PP	0,079	**0,636**	-0,005	0,090	-0,023	-0,085	0,010	-0,042	0,128
RCS	-0,045	0,049	0,078	**0,881**	0,027	-0,014	0,031	-0,012	-0,080
LS	-0,060	0,196	0,176	**0,864**	0,049	-0,009	-0,012	0,013	0,052
PU	-0,055	0,138	0,043	-0,246	0,171	0,029	0,000	0,008	**0,594**
PO	**0,747**	-0,013	-0,040	-0,002	0,237	-0,029	-0,008	-0,104	-0,157
NO	-0,173	0,043	-0,030	-0,031	-0,023	-0,148	**-0,719**	-0,077	0,051
NV	**0,328**	-0,024	0,028	0,056	**0,802**	0,027	-0,048	-0,202	0,033
TE	**0,881**	0,000	0,032	-0,041	0,110	0,020	0,122	0,016	0,076
TC	**0,403**	-0,012	0,046	0,007	**0,686**	-0,022	0,196	0,139	-0,004
TO	**0,882**	-0,003	0,035	-0,031	0,068	0,017	0,178	0,029	0,075
OO	0,252	0,020	-0,050	0,018	-0,257	0,060	0,214	**0,587**	-0,198
SC	0,106	0,025	-0,050	-0,016	0,014	**0,847**	-0,118	-0,079	0,047
P	-0,195	-0,023	0,057	-0,102	0,214	**0,267**	0,050	**0,593**	-0,093
BA	**0,400**	-0,004	0,056	-0,086	0,062	-0,107	**0,331**	**0,269**	0,047
DP	**0,518**	0,070	0,004	-0,012	**-0,560**	-0,207	-0,037	-0,229	-0,149
DC	0,072	0,006	0,029	0,020	0,046	-0,208	**0,745**	-0,032	0,104
TS	-0,250	-0,018	0,059	0,028	0,061	**0,683**	0,086	**0,385**	0,041
SS	-0,034	-0,041	-0,059	0,167	-0,041	-0,256	**-0,336**	**0,550**	0,329
GA	0,041	-0,002	**0,953**	0,070	0,008	0,019	0,059	-0,044	-0,026
PA	0,006	-0,025	**0,937**	0,179	0,045	-0,029	0,019	0,043	0,032
Autovalor	3,509	2,349	2,033	1,849	1,486	1,337	1,198	1,061	1,002
Proporción	0,146	0,098	0,085	0,077	0,062	0,056	0,050	0,044	0,042
Acumulado	0,146	0,244	0,329	0,406	0,468	0,524	0,573	0,618	0,659

ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES INÓCULOS VACUNALES FRENTE A MAMITIS PRODUCIDAS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

M. Pérez[1], M. Monzón[1], L. Costa[2] y B. Amorena[1]

[1]CSIC-Unidad de Sanidad Animal (SIA/DGA) 50016-Zaragoza, e Instituto de Agrobiotecnología y Recursos Naturales (CSIC-UPNA). 31006 Pamplona.
[2]Laboratorios HIPRA, S.A. Av. De la Selva 135. 17170 Amer (Girona).

INTRODUCCIÓN

La mamitis por estafilococos representa un grave problema en las razas lecheras de rumiantes, por lo que las medidas profilácticas que se aplican actualmente frente a esta enfermedad están en auge. Se han ensayado diferentes inóculos vacunales con *Staphylococcus aureus* (3, 4, 6, 9). Si bien la tendencia actual consiste en inocular el mínimo número de moléculas extrañas en el organismo, es difícil lograr que éstas induzcan una respuesta suficientemente intensa y de amplio espectro que proteja frente a la infección. También se han utilizado distintos adyuvantes vacunales, ya que pueden potenciar la aparición de distintos tipos de respuestas inmunes. El efecto de la vacuna se evalúa normalmente estudiando el grado de protección conferido tras una infección experimental o natural en el campo (7). También se consideran interesantes los estudios inmunológicos para determinar la producción de anticuerpos inducidos por los distintos inóculos vacunales (8). El objetivo del presente trabajo fue comparar los inóculos vacunales frente a la mamitis por *S. aureus* en ovino intentando establecer una relación de producción de anticuerpos frente a componentes externos de *S. aureus* y el grado de protección conferido tras una infección experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron 52 ovejas de la raza "rasa aragonesa" y se establecieron 7 grupos. Seis grupos formados por 6 animales cada uno, vacunados con diferentes inóculos y un grupo control de 16 animales (grupo 7) no vacunados. Los inóculos de los animales vacunados fueron los siguientes:

1 – Toxoide (1) + 2 mg de exopolisacárido purificado (Ep) de *S. aureus* encapsulado en 4 mg de liposomas (2) (Ep + L).
2 – *Escherichia coli* inactivada + (Ep + L).
3 – Ep + L.
4 – 30 mg de extracto por calor (5) de *S. aureus* (no purificado por cromatografía) encapsulado, en 30 mg de liposomas.
5 – *S. aureus* inactivado por calor (cepa ATCC29213 gran productora de Ep) a una concentración de 10^{10} bacterias/ ml con 3‰ de $Al(OH)_3$ como adyuvante.
6 – Ep encapsulado en micropartículas (polímero: 5% p/v y diclorometano: csp).

La vacunación de todos los animales se llevó a cabo por vía intramuscular a los 3,5 meses de gestación, realizándose un recuerdo 5 semanas después. Tras la vacunación, se tomaron muestras de sangre semanalmente para determinar la

presencia de anticuerpos frente a Ep de *S. aureus* mediante una técnica ELISA. Se compararon los niveles de anticuerpos mediante el test de Chi cuadrado. Para detectar posibles reacciones adversas a las vacunas se realizaron exámenes clínicos, incluyendopalpaciones y tomas de temperaturas rectales a las 4 horas tras la vacunación y el recuerdo y semanalmente.

La infección experimental se realizó 4 días después del parto inoculando por vía intramamaria en cada mama, a todos los grupos, 10^3 bacterias (*S. aureus*) de una cepa productora de Ep. Durante los 10 días siguientes a la infección experimental se tomaron muestras de sangre y leche y se midió la temperatura rectal, examinándose y evaluándose los siguientes parámetros (7): estado general del animal, temperatura y color de la ubre, induración local y general de la ubre, dolor a la palpación, grado de inflamación, presencia de mamitis gangrenosa, aspecto de la leche (sangre, coágulos, grumos, color, textura y recuento bacteriológico).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ningún inóculo vacunal indujo en los animales algún tipo de reacción local o cambio de temperatura. En la Fig. 1 se representa la evolución de anticuerpos anti-Ep de los diferentes grupos de animales vacunados, detectándose el mayor nivel de anticuerpos en el grupo 5 que a su vez presentó el mayor grado de protección frente a la infección mamaria respecto del grupo control ($p< 0,01$) (Fig. 2).

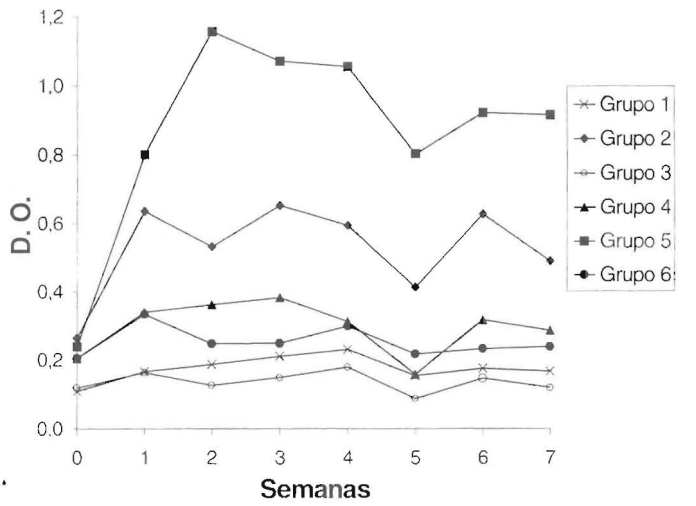


Fig. 1: Evolución de anticuerpos frente a Ep (determinada por densidad óptica, D.O. en ELISA) en animales vacunados.

Por lo tanto, este grupo presentó mayor eficacia en relación a los grupos en los que se utilizó Ep purificado en ausencia de bacterias. La inclusión de *E. coli* en el inóculo

(grupo 2), estimuló la formación de anticuerpos frente a Ep (Fig. 1) pero en menor grado que en el grupo 5, detectándose también una menor protección (Fig. 2).

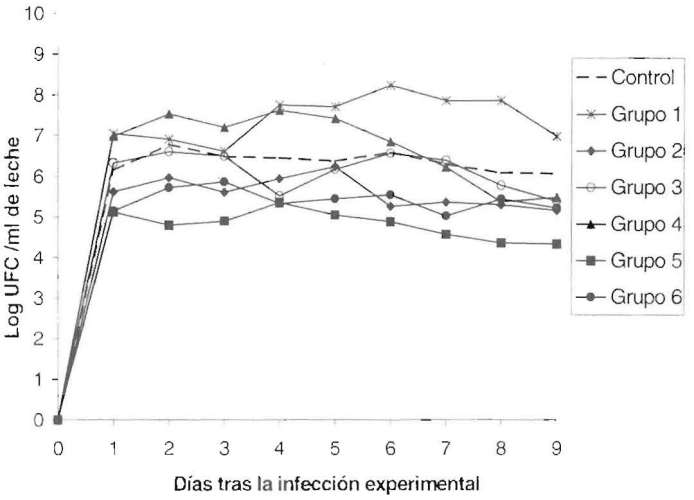


Fig. 2: Recuento bacteriológico (log UFC/ ml de leche) durante 9 días tras la infección experimental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adlam, C., Mcartnay, C.H., Arbuthnott, J.P., Thorkey, C.M., (1977). Infect. Immun. 17(2): 250-256.
2. Amorena, B., Baselga, R., Albizu, I. (1994). Vaccine 12(3): 243-249.
3. Fattom, A. I., Sarwar, J., Ortiz, A., Naso, R. (1996). Infect. Immun. 64(5): 1659-1665.
4. Fattom, A. I., J. Sarwar, L. Basham, S. Ennifar y R. Naso (1998). Infect. Immun. 66: 4588-92.
5. Lee, J.C. (1997). Infect. Immun. 65: 4146-4151.6.
6. McKenney, D., K. L. Pouliot, Y. Wang, V. Murthy, M. Ulrich, G. Döring, J. C. Lee, D. A. Goldmann y G. B. Pier. (1999). Science 284:1523-1527.
7. Nordhaug, M. L., L.L. Nesse, y N.L. Norcross, (1994a). Clinical parameters. Dairy Sci. 77: 1267-1275.
8. Nordhaug, M. L., L.L. Nesse, y N.L. Norcross, (1994b). Antibody response. Dairy Sci. 77: 1276-1284.
9. Watson, D.L., (1988). Res. in Vet. Science. 45:16-21.

AGRADECIMIENTOS. Nuestra expresión de gratitud al personal del Servicio de Investigación Agroalimentaria (SIA DGA) de Zaragoza a cargo de los animales (Echegoyen y sus ayudantes) y la colaboración de J.M. Irache (Universidad de Navarra) para la elaboración de micropartículas conteniendo slime. Financiado por Proyectos CICYT-Hipra (Nº 95-0235-OP) y CICYT BIO 99-0285.

EFECTO DE LA DENSIDAD EN LAS CUADRAS DEL MATADERO SOBRE EL BIENESTAR DEL GANADO VACUNO.

Rodes, D*.; Palacio, J**.; Santolaria,MP***.; Aceña, M*.; Chacón, G*.; Gascón, M*., García-Belenguer, S*.
*Unidad de Patología General, Médica y de la Nutrición. Facultad de Veterinaria de Zaragoza.
C/Miguel servet, 177. Zaragoza, España.
**Dpto. de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Cardenal Herrera-CEU. Valencia.
***Dpto. de Producción Animal. EU. Politécnica de Huesca. Univ. de Zaragoza.

INTRODUCCION

El estudio del bienestar físico y emocional de los animales de abasto, es actualmente un tema de gran preocupación. Las condiciones ambientales que rodean el período de estancia en las cuadras del matadero previo al sacrificio son diversas y tienen una gran importancia desde el punto de vista del bienestar de los animales.

En la especie bovina, las condiciones del transporte, la densidad durante la espera en las cuadras del matadero, la posible mezcla de distintos lotes y unas nuevas condiciones ambientales, pueden inducir reajustes fisiológicos y de comportamiento que en la mayoría de los casos, conducen a un estado de estrés social (Warris, 1993). Se ha observado que el ganado vacuno se muestra más activo en las cuadras durante la época de verano (Bolzoni et al., 1997), y que temperaturas superiores a 23C° pueden disminuir el confort de los animales (Honkavaara, 1984). Todo ello hace que la densidad pueda ejercer una mayor influencia sobre el bienestar animal en esta época del año.

El objetivo de este estudio fue valorar el efecto de la densidad en las cuadras del matadero en época estival sobre parámetros fisiológicos indicadores del bienestar animal.

MATERIAL Y METODOS.

Este estudio tuvo lugar en un matadero industrial de la provincia de Huesca y fue llevado a cabo en la época estival, siendo las condiciones climáticas las propias de la estación, 23,91C°de temperatura exterior y 65,33% de humedad relativa.

Se utilizaron un total de 47 añojos cruzados de raza Parda Alpina y Charolais; todos ellos fueron machos enteros de 11-12 meses con un peso medio de 515 kg y pertenecientes a un mismo lote. Las condiciones de transporte desde la granja fueron las mismas para todos ellos, con una duración de 25 minutos por carretera convencional. Tras la llegada al matadero, los animales se alojaron en tres cuadras bajo idénticas condiciones ambientales y de manejo pero diferentes en la densidad animal: cuadra B, de baja densidad (213 kg/m^2 o 2,5 m^2/animal); cuadra M, de densidad media (301kg/m^2 o 1,7 m^2/animal); cuadra A, de alta densidad (402 kg/m^2 o 1,2 m^2/animal). Ante la falta de una normativa vigente que haga referencia a las densidades adecuadas para el ganado vacuno en cuadras de matadero, se tuvieron en cuenta las densidades habitualmente utilizadas en los mataderos industriales y la legislación vigente sobre la densidad de los animales en granja y durante el transporte. Por una parte, la directiva comunitaria 97/2/CE, indica que terneros de ≥220 kg, deben disfrutar de al menos 1,8 m^2/animal de espacio en cuadras de granja y por otra, el Real Decreto 1997/1759, expone normas relativas al transporte por carretera, condicionando una superficie por animal de 0,95-1,30 m^2, para vacuno de 500kg

El tiempo de espera fue de 8 horas para todos los grupos, durante el cual los animales dispusieron en todo momento de agua de bebida. Pasado este tiempo, los terneros fueron conducidos al box de aturdimiento, momento en el cual se filmó a los animales para valorar su reactividad en dicho box; para lo cual se aplicó una escala de 1 a 4 propuesta por Grandin et al. (1993, 1995): (1) el animal permaneció inmóvil; (2) el animal realizó movimientos ligeros de pies o cabeza; (3) el animal estuvo inquieto y emitió alguna vocalización; (4) el animal estuvo muy exitado, realizando movimientos bruscos. (Tabla I).

En el momento del sacrificio de los animales se recogieron muestras de sangre para la posterior realización de un hemograma completo (GR, Hgb, Htc, GB, fórmula leucocitaria) y para la determinación de parámetros bioquímicos séricos y plasmáticos (CK, LDH, AST, ALT, lactato, glucosa, cortisol).

El estudio estadístico de los datos se llevó a cabo con el programa estadístico SPSS vs 9.0. Para la comparación entre grupos se aplicó un análisis de varianza de un factor.

RESULTADOS Y DISCUSION

Respecto a los índices hematológicos, la densidad de espera en las cuadras del matadero no ejerció una influencia significativa sobre los parámetros eritrocitarios, aunque el valor medio de los glóbulos rojos (10,73±1,41), de la hemoglobina (14,74±1,21) y del hematócrito (43,17±4,40) para el total de animales, se situó por encima del intervalo considerado normal para la especie (Kaneko, 1989). Esta elevación podría ser consecuencia de la acción de las catecolaminas sobre la musculatura contráctil del bazo (Feldman et al., 2000). Por otro lado, la densidad si que influyó sobre el número de glóbulos blancos totales, y sobre la cantidad de linfocitos y neutrófilos circulantes, siendo el grupo sometido a menor densidad el que mostró unos valores más elevados. La mayor leucocitosis y linfocitosis encontradas en este grupo, podrían deberse a una mayor liberación de epinefrina durante el aturdimiento, ya que también fue este el grupo más reactivo en dicho momento (Feldman et al., 2000). No obstante, la elevada relación neutrófilos:linfocitos en todos los grupos indicaría un intensa respuesta de estrés en todos los animales

Sobre los parámetros bioquímicos, se detectó un efecto significativo de la densidad sobre la actividad enzimática de CK y AST, y sobre la concentración plasmática de lactato. La CK mostró una actividad enzimática más elevada en el grupo sometido a la menor densidad, lo cual podría explicarse por la mayor actividad física desarrollada por estos animales en el box de aturdimiento y probablemente en las cuadras, considerando que es una enzima de gran sensibilidad ante la acidificación y el daño muscular (Kaneko, 1989). Tanto la AST como el lactato, estuvieron significativamente elevados en el grupo sometido a la mayor densidad; esto podría indicar un mayor metabolismo proteico y glucolítico respectivamente, ocasionado por una superior demanda energética, ya que estos animales tuvieron una mayor dificultad para tumbarse por el escaso espacio libre del que dispusieron en la cuadra (Wiklund et al., 1996; Fisher et al., 1997). Así mismo, el hecho de que los animales sometidos a alta densidad mostraran menor reactividad en el momento del aturdimiento pudo ser debido a un mayor agotamiento físico en cuadras. Por otro lado, aunque no se detectaron diferencias significativas, hubo una importante elevación de la actividad enzimática de la LDH en los tres grupos, reforzando así la hipótesis de la existencia de un importante metabolismo muscular de tipo glucolítico (Petersen et al., 1997).

Es de destacar la alta concentración de cortisol encontrada en los tres grupos respecto a los valores de referencia considerados como normales en esta especie. Por otro lado, aunque no hubo diferencias significativas entre los grupos, si que se observó un incremento en la concentración de cortisol a medida que los grupos fueron sometidos a una mayor densidad. Esto estaría indicando una respuesta de estrés más intensa al aumentar la densidad.

De los resultados de este estudio se desprendería que la densidad de los terneros en las cuadras del matadero es un factor que influye sobre la respuesta de estrés de los animales. Dado que los animales sometidos a media y baja densidad mostraron menores índices de estrés, desde un punto de vista práctico y en condiciones comerciales, sería aconsejable el respetar un mínimo de 1,7m^2/animal en las cuadras del matadero; aunque más estudios deberían ser realizados para refrendar este resultado.

TABLA I. Valores de los parámetros hematológicos analizados, y estudio del comportamiento en el box de aturdimiento en función de la densidad en verano.

Densidad en verano	GR (5-10) $x10^6/mm^3$	Hgb (8-14) G/dl	Htc (24-38) %	GB (1,8-9,5) $x10^3/mm^3$	L (4,8-7,8) $x10^3/mm^3$	N (0,35-1,25) $x10^3/mm^3$	E (0,03-0,13) $x10^3/mm^3$	Neut/linf (0,07-0,16)	Reactividad en aturdimiento.
Cuadra B									
X	10,66	14,32	42,56	$8,30^{aA}$	$3,88^{aA}$	$4,13^{A}$	0,06	1,19	$2,33^{A}$
(sd)	(0,72)	(1,93)	(3,06)	(1,41)	(0,82)	(1,33)	(0,05)	(0,78)	(0,98)
Cuadra M									
X	10,78	14,99	43,85	$6,78^{b}$	$2,94^{b}$	$3,61^{a}$	0,13	1,26	1,66
(sd)	(1,80)	(0,82)	(5,29)	(1,65)	(0,6)	(1,48)	(0,16)	(0,57)	(0,89)
Cuadra A									
X	10,73	14,80	43,02	$5,45^{B}$	$2,82^{B}$	$2,38^{aBb}$	0,13	0,89	$1,40^{B}$
(sd)	(1,46)	(0,87)	(4,49)	(1,24)	(0,64)	(1)	(0,12)	(0,45)	(0,59)
SIG.	*NS*	*NS*	*NS*	***	***	***	*NS*	*NS*	**

Letras diferentes junto con los valores medios indican diferencias significativas entre los grupos sometidos a las distintas densidades (mayúsculas: p<0,01; minúsculas: p<0,05). Nivel global de significación: (*NS*): No significativo; (**): p<0,01; (***): p<0,001. GR: glóbulos rojos, Hgb: hemoglobina, Htc: hematócrito, GB: glóbulos blancos, L: linfocitos, N: neutrófilos, E: eosinófilos, Neut/linf: relación entre neutrófilos y linfocitos. Reactividad en aturdimiento: actividad desarrollada en el box de aturdimiento.

TABLA II. Valores de parámetros plasmáticos y séricos sanguíneos analizados, en función de la densidad en las cuadras en verano.

Densidad en verano.	CK (8,7-39,3) UI.	LDH (692-1445) UI.	AST (66,4-118,2) UI.	ALT (13-41) UI.	Lactato (5-20) UI.	Glucosa (45-74,8) mg/dl.	Cortisol (3,18-6,58) ng/ml
Cuadra B							
X	1368,41^{Aa}	3336,83	115,41^{a}	30,16	77,03^{a}	96,25	17,75
(sd)	(1161,39)	(336,95)	(17,07)	(9,36)	(31,91)	(17,91)	(13,70)
Cuadra M							
X	$591,80^{B}$	3348,80	$113,00^{A}$	28,26	84,31	100,13	30,88
(sd)	(278,36)	(935,20)	(25,99)	(7,85)	(37,36)	(19,41)	(22,86)
Cuadra A							
X	$745,35^{b}$	3705,15	$169,05^{bB}$	30,70	$107,41^{b}$	93,20	48,97
(sd)	(435,20)	(1650,44)	(74,05)	(8,49)	(38,11)	(20,74)	(53,85)
SIG.	**	*NS*	**	*NS*	*	*NS*	*NS*

Letras diferentes junto con los valores medios indican diferencias significativas entre los grupos sometidos a las distintas densidades (mayúsculas: p<0,01; minúsculas: p<0,05). Nivel global de significación: (*NS*): No significativo; (*): p<0,05; (**): p<0,01. CK: creatín quinasa, LDH: lactato deshidrogenasa, AST: aspartato aminotransferasa, ALT: alanín aminotransferasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Bolzoni M. et al (1997) Obiettivi e documenti veterinari 18: 73-80.
Feldman B.F. et al (2000) Schalm´s Veterinary Hematology. 5ªed. ED. Lippincott Williams & Wilkins.
Fisher A.D. et al (1997) Animal Science 64: 53-62.
Grandin T. (1993) Journal of Animal Science 71: 1065-1070.
Grandin T. et al (1995) Applied Animal Behaviour Science 46: 117-123.
Honkavaara M. (1989) Journal of agricultural Science in Finland 61: 425-432.
Kaneko J.J. (1989) Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4ªed. ED. Academic Press, Inc.
Petersen J.S. et al. (1997) Meat Science 46: 259-275.
Warris (1993) Proceedings of the 39TH ICOMST: 51-65, Calgary, Canada.
Wiklund E. et al (1996) Meat Science 42: 133-144.

Gestión y economía agraria

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA PRODUCTIVIDAD Y DEL COSTE DE PRODUCCIÓN ENTRE EL SISTEMA DE PRODUCCIÓN PORCINA A UN SOLO PARTO Y EL MODELO CLÁSICO DE CERDAS MULTÍPARAS

A. DAZA[1]; J. RIOPÉREZ[2]; C. DE ALBA[3]; J.R. FLOX[1]
[1] Departamento de Producción Animal. E.T.S. de Ingenieros Agrónomos. Ciudad Universitaria. 28040 Madrid
[2] Instituto de Nutrición y Alimentación. C.S.I.C. Ciudad universitaria. 28040 Madrid
[3] Kubus S.A. Las Rozas (Madrid)

INTRODUCCIÓN

El sistema de explotación a un solo parto en ganado porcino se apoya en la producción conjunta de cerdas primíparas y de lechones o cerdos cebados lo que implica una cubrición precoz de la cerda, un diagnóstico temprano de la gestación y la práctica de destetes precoces con el fin de que las cerdas proporcionen al mercado canales de una calidad próxima a la de los cerdos de cebo para que no sufran ostensibles reducciones de su precio de venta en el mercado.

La bibliografía ofrece algunos antecedentes sobre este modelo de producción (Ellis *et al.*, 1996; Zbinden, 1998; Cabeza de Vaca, 2001), infiriéndose de ella que el sistema puede ser económicamente interesante en mercados, como el español, donde el consumo de productos elaborados de ganado porcino tiene especial relevancia y la oferta de cerdos pesados es muy baja debido a que su producción conlleva la castración de los machos y un empeoramiento de los índices técnicos y económicos. El interés de este sistema de producción porcina se potencia si, además, se trabaja con tipos genéticos, como la raza Duroc, que destacan por su calidad de carne pero, evidentemente, siempre que se obtengan unos resultados económicamente adecuados.

Por todo ello, el objetivo de este trabajo es cotejar el coste de producción del modelo a un solo parto con el sistema convencional de cerdas multíparas, utilizándose para tal fin dos explotaciones de cerdas Duroc.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recabado en una explotación colaboradora los resultados productivos de 120 cerdas Duroc que se sometieron al modelo de producción a un solo parto mediante inducción de la pubertad a los 167,7 días de edad con una inyección de PG-600 (400 UI de PMSG + 200 UI de HCG), doble inseminación posterior y diagnóstico de gestación con ecógrafo de pantalla a los 23 días postinseminación. Las cerdas que no salieron en celo, las diagnosticadas de gestación negativa y las que interrumpieron la gestación por causas diversas (reabsorciones, abortos) y las de baja prolificidad (≤ 4 lechones nacidos vivos) fueron eliminadas de la explotación, 10, 47,3 y 128 días después de la inducción respectivamente. El resto de las cerdas amamantaron a la totalidad de los lechones nacidos vivos durante 21 días y se eliminaron 15 días después del destete. El consumo medio diario de pienso de las cerdas, durante las fases de gestación, lactación y postdestete, fue de 2, 3,3 y 2 kg respectivamente, consumiendo los lechones 1, 22 y 216 kg de pienso de iniciación, transición y crecimiento-cebo por animal desde el nacimiento hasta el sacrificio.

De otra parte, se obtuvieron los resultados productivos de otra explotación, aneja a la anterior, de 227 cerdas Duroc, que seguía el sistema clásico de producción con el fin de cotejar sus costes de producción con los costes de la explotación a un solo parto.

Con los datos productivos y contables de ambas explotaciones se han calculado sus costes de producción por kg de cerdo cebado utilizando la metodología propuesta por Alonso y Serrano (1991, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la explotación con manejo a un solo parto la aplicación de PG-600 se tradujo en que el 81,66% de las cerdas salieran en celo 3-4 días después de la inducción logrando la doble inseminación una fertilidad del 61,22%.

La tasa de abortos observada fue del 5,1% respecto a cerdas inseminadas y el 3,06% de las cerdas diagnosticadas con el ecógrafo de pantalla como gestantes positivas no parieron, aunque tal vez el diagnóstico fue correcto y tal fenómeno pudo deberse a reabsorciones

embrionarias tardías o a abortos no controlados. De las cerdas paridas se eliminaron el 11,67% debido a baja prolificidad (≤ 4 lechones) siendo traspasados sus lechones a las cerdas que amamantaron.

Los resultados obtenidos de prolificidad y mortalidad de lechones fueron poco favorables (Tabla 1) tal como habíamos evidenciado en otro experimento previo (Daza *et al.*, 1999).

En la Tabla 2 aparecen reflejados el fraccionamiento de la cerda tipo y los kg de peso vivo generados por cerda inducida en el sistema a un solo parto. Los datos de dicha tabla han sido utilizados para calcular los costes de producción y en la misma debe observarse que los kg producidos de cerdo cebado han sido 290,8 kg, derivados de 3,02 animales cebados por cerda inducida (Tabla 1), mas 18,0 kg que proceden de la fracción de cerda tipo que no responde a la PG-600 y se elimina, rápidamente, de la explotación con 98,2 kg por no haber salido en celo.

En la explotación de cerdas multíparas la vida media útil de las cerdas fue de 4,71 partos, la edad media al destete de los lechones de 30,1 días y el intervalo medio destete-cubrición fecundante de 12,2 días. La producción de lechones de 30 kg de peso por cerda y año fue de 20,3 y la tasa de mortalidad en el período de crecimiento-cebo alcanzó el 2,52%, con lo que la producción de cerdos cebados/cerda/año supuso 19,8 animales.

Los resultados obtenidos, en ambos sistemas productivos, del coste por kg de cerdo cebado producido vienen expuestos en la Tabla 3. Entre los dos modelos, prácticamente, no hemos detectado diferencias (136 vs 138 ptas/kg). En el modelo a un solo parto el coste de alimentación es superior al de multíparas debido a que el índice de transformación global del alimento es más elevado (3,15 vs 3,0 kg/kg).

Sin embargo, en el sistema a un solo parto el coste de amortización de las instalaciones es inferior al del clásico debido a su menor relación plazas de maternidad/ plazas de gestación (1/5 vs 1/3) y al ser menos exigente en plazas de transición y cebo. En la explotación a un solo parto el coste amortización del ganado resulta negativo debido al precio superior de la fracción de cerda tipo sacrificada a los 113-140 kg de peso vivo, para la elaboración de jamones y paletas, que la cerda de reposición.

Según los resultados que aporta esta comunicación, puede concluirse que para que el sistema de manejo a un solo parto logre menores costes de producción que el modelo clásico de cerdas multíparas es necesario que mejore sus resultados reproductivos de fertilidad y prolificidad aspecto que, por ahora, parece difícil de conseguir a no ser que se retrase la edad a la primera cubrición.

TABLA 1. Resultados productivos del sistema de explotación a un solo parto en ganado porcino intensivo.

Variables	Valor	Variable	Valor
– Cerdas nulíparas inducidas	120	– Mortalidad lechones al nacimiento (%)	6,11
– Cerdas en celo (%)	81,66	– Mortalidad lechones nacimiento-destete (%)	10,0
– Fertilidad (%)[1]	61,22	– Mortalidad lechones transición (21-80 días) (%)	4,13
– Cerdas que amamantan (%)[2]	88,33	– Mortalidad cerdos en cebo (%)	2,42
– Lechones nacidos/cerda parida	7,63	– Cerdos cebados producidos por cerda inducida	3,02
– Lechones nacidos vivos/cerda parida	7,17	– Peso sacrificio cerdos cebo (kg)	96,3
– Lechones nacidos muertos/cerda parida	0,47	– Peso sacrificio cerdas (kg):	
– Lechones amamantados/cerda lactante	8,11	• No salidas en celo	98,2
– Lechones destetados/cerda lactante	7,30	• Inseminadas y no paridas	112,8
– Lechones destetados/cerda parida	6,45	• Paridas y no amamantan	141,4
– Lechones destetados/cerda inducida	3,22	• Destetadas	135,2

[1] (Cerdas paridas/Cerdas inseminadas) x 100
[2] (Cerdas que amamantan/Cerdas paridas) x 100

TABLA 2. Reproductora tipo y kg de peso vivo (PV) producidos por cerda inducida en el sistema de manejo a un solo parto.

Fracción de cerda inducida	Causa de eliminación	Estancia en la explotación después de la inducción (días)	PV (kg)
0,1833	No salida en celo	10	18,00
0,3166	Preñez negativa, abortos y falsas positivas	47,3	35,70
0,05833	Baja prolificidad	128	8,25
0,4416	Destete	154	59,70
Cerdos cebados	-	-	290,83
		Total kg producidos/cerda inducida =	**412,48**

TABLA 3. Análisis económico comparativo de los modelos de producción a un solo parto (SP) y clásico de multíparas (M) en ptas/kg de cerdo cebado.

Concepto	SP	M	Concepto	SP	M
– Alimentación	102,0	97,7	– Varios	1,12	1,82
– Higiosanitarios	1,25	1,39	– Amortización instalaciones	7,60	10,0
– Conservación y reparaciones	2,70	3,20	– Amortización ganado	-0,72	2,2
			– Intereses	10,1	6,95
– Mano de obra	14,2	12,7	**TOTAL**	**138,25**	**135,96**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, R. y SERRANO, A. 1991. Los costes en los procesos de producción agraria. Ed. Mundi-Prensa, 147 pp.

ALONSO, R. y SERRANO, A. 2000. Economía de la empresa agroalimentaria. Ed. Mundi-Prensa, 392 pp.

CABEZA DE VACA, F. 2001. En: Porcino Ibérico: Aspectos claves, pp 199-214 (Coord. C. Buxadé y A. Daza). Ed. Mundi-Prensa.

DAZA, A; RIOPÉREZ, J; OVEJERO, I; MARTÍN RILLO, S; E ALBA, C. 1999. ITEA. Vol. Extra, nº 20. Tomo II, 663-665.

ELLIS, M; FOWLER, V.R.; FRANKLIN, M.F.; WOOD, J.D.; VARLEY, M.A. 1996. Animal Science, 62(3): 561-571.

ZBINDEN, P. 1998. Thesis Doc. Universitat Zurich, 90 pp.

Trabajo financiado por el proyecto CDTI P960250031

ANÁLISIS ECONÓMICO DE LAS EXPLOTACIONES DE OVINO DE LECHE DE RAZA ASSAF

P. Lavín, A.R. Mantecón, B. Villadangos, J. López y P. Díez.
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

El cambio racial ocurrido en las explotaciones de ovino de leche de Castilla y León ha llevado a una importante controversia sobre la rentabilidad de las explotaciones y su viabilidad económica (Hidalgo, 1999; Mantecón, Lavín, 1997), existiendo opiniones a favor y en contra de la explotación de las razas autóctonas (Churra y Castellana) en comparación con la raza Assaf.

El objetivo de este trabajo ha sido el estudio de los ingresos, gastos y margen bruto de las explotaciones ovinas de producción de leche basadas en la raza Assaf.

MATERIAL Y METODOS

Los datos utilizados fueron obtenidos de una encuesta que se realizó a un total de 37 ganaderos de ovino de leche de la provincia de León y corresponden al año 1999.

Los ingresos considerados en este trabajo han sido los ingresos procedentes de la venta de leche, corderos, animales para vida, ovejas de desvieje, lana y los ingresos procedentes de las subvenciones. En los gastos se han considerado los gastos en alimentación, compra de ganado, personal (salarios y seguridad social), sanitarios, reproducción, seguros y gastos varios (alquiler edificios, esquila, electricidad, etc.). Dentro de los gastos de alimentación se incluyen los gastos de compra de alimento para el ganado además de los gastos que ocasionan la producción de alimento para las ovejas en la explotación (alquiler de tierras, semillas, abonos, herbicidas, labores agrícolas, agua de riego, reparaciones, carburantes y lubricantes).

Para el análisis de los datos las explotaciones se han clasificado en función del Margen Bruto (MB) por oveja reproductora considerando este como la diferencia de los ingresos, sin tener en cuenta las subvenciones, menos los gastos indicados anteriormente. La distribución de las explotaciones ha sido:

***Alto** MB/reproductora*: >30.000 pts/reproductora (n=4).
***Medio** MB/reproductora*: > 10.000 y <30.000 (n=28).
***Bajo** MB/reproductora*: <10.000 (n=5).

Para el análisis de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tamaño del rebaño entre los tres niveles de MB/reproductora considerados, (397, 449 y 497 para los grupos alto, medio y bajo MB/reproductora respectivamente), siendo el tamaño medio para el total de las explotaciones de 450 ovejas reproductoras/explotación.

En la tabla 1 se presenta la distribución de los ingresos anuales por reproductora para los tres grupos de explotaciones considerados. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los ingresos de la venta de leche por reproductora ($P<0,001$), así como en los ingresos totales/reproductora ($P<0,001$) siendo, en ambos casos, superior el valor en las explotaciones de alto MB, seguidas de las del grupo medio y con los menores valores en las del grupo bajo.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre los grupos considerados, ni en los ingresos por la venta de corderos, ni en la venta de animales para vida o desvieje, ni en la venta de lana, lo que pone de manifiesto que actualmente es la venta de leche la que determina la mayor o menor rentabilidad de la explotación.

Los menores ingresos/reproductora en el grupo de bajo MB/reproductora, se compensa con unos mayores ingresos en la venta de productos agrarios ya que hay que considerar que el 32,4% de las explotaciones en estudio compaginan la producción de ovino de leche con la producción agraria para venta fuera de la explotación. Si tenemos en cuenta los ingresos de la agricultura, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje que suponen estos en el total de ingresos en las explotaciones de bajo MB (22,4%) que presentó un valor significativamente mayor que en los otros dos grupos, entre los cuales las diferencias no fueron estadísticamente significativas (5,7% para el grupo alto y 8,0% en el grupo medio).

Tabla 1: Distribución de los ingresos anuales (pts/reproductora) de las explotaciones de ovino de leche clasificadas en función del Margen Bruto/reproductora.

	Margen Bruto/reproductora						Nivel de
	Alto		Medio		Bajo		significación
Leche	43.639	±4.575,7[a]	32.205	±1.349,5[b]	22.400	±1.900,8[c]	***
Corderos	5.673	±2.189,9	5.598	±377,6	5.582	±754,9	NS
Animales para vida	1.877	±109,0	800	±500,8	0	±0,0	NS
Animales de desvieje	403,2	±79,41	260,7	±38,37	288,0	±88,89	NS
Lana	124,4	±38,14	116,1	±8,74	94,6	±20,19	NS
Totales sin subvenciones	51.717	±5.407,0[a]	38.980	±1.480,0[b]	28.364	±2.376,2[c]	***
Subvenciones	3.591	±462,8	3.694	±179,9	3.974	±425,7	NS

NS= No significativo. ***=P<0,001. [a,b,c] valores con distinto superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas.

Como se puede observar en la tabla 2, ninguno de los capítulos de gastos presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos considerados. Es de destacar que son los gastos de alimentación los que tienen una mayor importancia cuantitativa y si bien las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas (P>0,05, valor medio = 15.614 pts/reproductora) el valor del grupo de alto MB/reproductora fue un 30% menor que el de los otros dos grupos.

Tabla 2: Distribución de los gastos (pts/reproductora) de las explotaciones de ovino de leche clasificadas en función del Margen Bruto/reproductora.

	Margen Bruto/reproductora						Nivel de
	Alto		Medio		Bajo		significación
Alimentación	11.006	±4.464,7	16.264	±1.061,7	15.665	±2.761,1	NS
Ganado	0	±0,0	244,1	±62,18	170,3	±77,87	NS
Personal	3.581	±1.812,2	2.190	±357,6	3.349	±1.398,0	NS
Sanidad	355,8	±257,46	491,2	±84,50	437,7	±117,78	NS
Reproducción	87,5	±62,51	90,7	±20,66	59,6	±26,26	NS
Seguros	234,7	±63,95	250,2	±39,89	207,0	±53,24	NS
Varios	11.979	±288,3	1.099	±115,5	1.601	±839,3	NS
Gastos totales	16.462	±6.679	20.629	±1.169,1	21.490	±1.898,9	NS

NS= No significativo.

En la tabla 3 se presenta el Margen bruto de las explotaciones en los tres grupos estudiados. Las diferencias en este parámetro fueron estadísticamente significativas en el Margen Bruto/reproductora, como era de esperar, al ser este el parámetro elegido para la realización de los grupos de análisis.

Para el calculo de MB/UTA, se ha considerado sólo las UTA pertenecientes a la familia, ya que los salarios de la mano de obra, tanto fija como eventual del personal asalariados, ya están descontados en el MB.

Tabla 3: Margen Bruto de las explotaciones de ovino de leche para los tres grupos estudiados.

	Margen Bruto/reproductora			Nivel de significación
	Alto	Medio	Bajo	
Pts x 10^6/explotación				
MB con subvenciones	15,31 ±1415	10,41 ±1,718	5,46 ±1,033	NS
MB sin subvenciones	13,91 ±1,353	8,82 ±1,544	3,45 ±0,682	NS
Pts/reproductora				
MB con subvenciones	38.846 ±1.985,41^a	22.044,6 ±979,2^b	10.848 ±1.281,7^c	***
MB sin subvenciones	35.254 ±1.930,56^a	18.350,9 ±964,15^b	6.874 ±925,3^c	***
Pts x 10^6/UTA familiar				
MB con subvenciones	10,52 ±0,782^a	5,01 ±0,529^b	3,14 ±1,309^b	***
MB sin subvenciones	9,55 ±0,722^a	4,20 ±0,464^b	2,02 ±0,894^b	***

NS= No significativo. ***=P<0,001. . ^{a,b,c} valores con distinto superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas.

El MB/UTA familiar del grupo alto fue significativamente mayor (P<0,001) que el de los otros dos grupos, entre los cuales las diferencias no fueron estadísticamente significativas (P>0,05), tanto si se incluyen las subvenciones como cuando estas no se tienen en cuenta en los ingresos. El valor presentado de MB/UTA familiar en el grupo alto fue el doble que el grupo medio, y más del triple del grupo bajo.

De los datos presentados podemos destacar la importante mejoría en los rendimientos económicos de las explotaciones que se ha producido en los últimos años, ya que mientras que en el año 1990 la mayoría de las explotaciones de ovino de leche no eran viables económicamente y necesitaban de una ayuda para su supervivencia económica, superando sólo las explotaciones de leche de gran tamaño el salario mínimo interprofesional sin tener en cuenta los ingresos procedentes de las subvenciones (Lavín et al., 1997), actualmente esta cifra es altamente sobrepasada, y sólo 2 explotaciones de las 37 consideradas estaban por debajo del valor del salario mínimo interprofesional correspondiente al año 1999 (969.780 pts).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hidalgo, C. (1999). *La rentabilidad de las explotaciones de ovino de leche en zonas desfavorecidas en el ámbito de la nueva P.A.C.* Tesis doctoral. Universidad de León.

Lavín, P., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J. (1997). Efecto del tamaño de los rebaños sobre las características técnico-económicas de los sistemas de producción ovina en la provincia de León. *ITEA, Volumen extra 18,* 821-823.

Mantecón, A.R., Lavín, P. (1997). Sistemas de producción de las razas Churra y Castellana. En: *Ovino de leche: aspectos claves.* (Buxadé, C., ed.). pp. 353-373. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid (España).

SAS. (1989). SAS/STAT® User's Guide Int. (Version 6,4 th De.) SAS Inst. Inc., Cary, NC.

ANÁLISIS ECONÓMICO DE LA PRODUCCIÓN DE TERNEROS LECHALES DE RAZA PARDA: COMPARACIÓN DE DOS NIVELES DE INGESTIÓN DE LECHE.

A.R. Mantecón, J. López, A. Cerdeño, F.J. Giráldez y P. Lavín
Estación Agrícola Experimental, CSIC. Apartado 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

Los cruzamientos indiscriminados realizados en los últimos años en el ganado vacuno de la montaña castellano-leonesa (Serrano et al., 1999) han llevado a una pérdida económica importante por la imposibilidad de vender reproductores y no poder establecer ningún plan de mejora a medio-largo plazo. Por otra parte, un número importante de las explotaciones de ganado vacuno de raza Parda ha sido dedicada a la producción láctea, viéndose disminuida esta actividad por la limitación a la producción (cupos), por las exigencias higiénico-sanitarias comunitarias y el mayor coste de transporte. Por ello, la recuperación y mantenimiento de la cabaña de raza Parda lleva a la necesidad de plantear alternativas a las estrategias de producción existentes y cuya rentabilidad ha de ser evaluada.

El objetivo de este trabajo es el análisis económico de la producción de terneros lechales en explotaciones de ganado vacuno de raza Parda como alternativa a la producción de leche, utilizando dos sistemas de crianza con distinto aporte de leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó la información obtenida de un experimento (Mantecón et al., 2001a,b) llevado a cabo con 18 terneros de raza Parda, que fueron equitativamente distribuidos en los dos tratamientos experimentales siguientes: *Tratamiento "ad libitum"* (A: nivel de ingestión de leche "ad libitum" durante todo el periodo de crecimiento) y *Tratamiento "restringido"* (R: nivel de ingestión de leche del 70% de "ad libitum" hasta los 75 días de edad y posteriormente "ad libitum" hasta el sacrificio). Los terneros fueron sacrificados cuando alcanzaron los 5 meses de edad, con un peso vivo de 232,0±9,25 kg y 215,4±8,44 kg para los grupos A y R, respectivamente. Los parámetros, de cada animal, utilizados en este trabajo han sido: peso vivo inicial, ingestión total de leche y peso de la canal, cuyos valores medios se indican en la tabla 1.

Al no existir diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en la conformación de las canales y lograr un nivel de engrasamiento adecuado en ambos grupos, no se diferenció el precio (ptas/kg canal) en ambos tratamientos.

Tabla 1. Peso inicial, ingestión de leche y peso canal de los dos tratamientos experimentales.

	Tratamientos		Nivel de
	A	R	Significación
PV inicial (kg)	62,6±3,58	69,3±4,87	ns
Ingestión total de leche (l)	1576±67,3	1240±36,1	***
Peso de la canal fría (kg)	134,5±6,01	118,9±3,83	*

*= p<0,5, ***= p<0,001, ns= p>0,10

Para el cálculo del coste de producción se ha tenido en cuenta el precio inicial de los terneros en función de su peso vivo en un rango de 500 a 1.000 ptas/kg, el precio de la leche en un rango de 35 a 65 ptas/litro y los "otros costes" implicados en la crianza (utensilios, mantenimiento de instalaciones, seguros, electricidad, sanidad y material de

camas) con un valor fijo por ternero de 8.000 ptas. Los valores indicados han sido considerados para las condiciones reales actuales de las explotaciones dedicadas a la producción de leche y venta de terneros en los primeros dias de vida, en las cuales se podría aplicar la producción de terneros lechales si el valor de oportunidad así lo aconseja. Para el cálculo de los ingresos se consideró un rango de 700 a 1300 ptas/kg canal. Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ventaja económica en el tratamiento R por la reducción en la ingestión total de leche (336 litros) se puede ver compensada por el menor peso medio de la canal (15,6 kg). No teniendo en cuenta otros parámetros el punto de equilibrío entre los tratamientos A y R se logra cuando la relación de precio de la canal/precio de la leche es igual a 21,5. De forma que si esta relación es menor al valor indicado, bien por una disminución del precio del kg de canal o por aumento del precio del litro de leche o ambas, el tratamiento R sería más favorable desde el punto de vista económico y viceversa.

En la tabla 2 se indican los valores medios del coste de producción (ptas/ternero) para cada uno de los tratamientos (a y R), obtenidos teniendo en cuenta el rango de precios iniciales de los animales, el precio unitario de la leche y los "otros costes". De los resultados indicados se deduce que al aumentar el precio unitario inicial (ptas/kg de peso vivo) o disminuir el precio unitario de la leche (ptas/l) las diferencias entre tratamientos se reducen y pasan a no ser estadísticamente significativas (p>0,10).

Tabla 2. Coste de producción (ptas/animal) de terneros lechales en función del precio inicial y de la leche, para cada tratamiento experimental.

	Ptas/kg peso vivo inicial		
Ptas/l leche	**600**	**800**	**1000**
35	A= 100.741 R= 93.018 Ns	A= 113.266 R= 106.885 ns	A= 125.791 R= 120.751 ns
50	A= 124.384 R= 111.626 +	A= 136.909 R= 125.492 ns	A= 149.434 R= 139.359 ns
65	A= 148.026 R= 130.223 *	A= 160.551 R= 144.100 +	A= 173.076 R= 157.967 ns

*= p<0,5, += p<0,10, ns= p>0,10

De las regresiones realizadas (p<0,001, r>0,7370) entre el coste de producción (ptas/ternero) y el precio unitario inicial (ptas/kg de peso vivo) o el precio de la leche (ptas/l) se obtienen los valores de incremento (ptas/ternero) en el coste de producción por cada peseta de incremento en el precio de la leche (A= 1576 y R= 1240) y por cada peseta de incremento en el precio inicial (A: 62,6 y R= 69,3).

Cuando el coste de producción se expresa en ptas/kg de canal obtenida no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, siendo el valor medio de 770 ptas/kg canal cuando el precio inicial de los terneros fue de 600 ptas/kg de peso vivo y el valor del litro de leche de 35 ptas. De las regesiones realizadas (p<0,01, r>0,7986), al igual que en el caso anterior se obtiene un valor de incremento en el coste (ptas/kg canal) de 11,1 ptas por cada unidad de incremento en

el precio unitario de la leche y de 0,53 ptas por cada peseta de incremento en el precio inicial de los animales.

Además de los costes indicados, para comparar la alternativa de producción de terneros lechales se ha realizado el cálculo del margen bruto (ingresos por la venta de canales - coste inicial - coste de alimentación - "otros gastos"), considerando los rangos indicados en la estimación de coste de producción y en el precio unitario de las canales (de 700 a 1300 pts/kg canal). Para los rangos de valores indicados, las diferencias entre tratamientos en el valor del margen bruto no fueron estadísticamente significativas ($p>0,10$). En la tabla 3 se indica el valor medio del margen bruto obtenido, de acuerdo con los parámetros indicados.

A medida que aumenta el precio unitario inicial de los terneros (ptas/kg de peso vivo) y el precio de la leche (ptas/litro) y disminuye el precio del la canal (ptas/kg) se reduce el margen bruto por animal a un ritmo de: 66,2 ptas por cada peseta de incremento en el coste unitario inicial, 1.398 ptas por cada peseta de incremento en el coste unitario de la leche y 126 ptas por cada peseta de disminución en el precio del kg de canal.

Tabla 3. Margen bruto (ptas/animal) de la producción de terneros lechales en función del precio inicial, del precio de la leche y del precio de venta de las canales.

		Ptas/kg peso vivo inicial		
Ptas/kg canal	**Ptas/l leche**	**600**	**800**	**1000**
700	**35**	-8.299	-21.534	-34.768
	50	-29.275	-42.511	-55.746
	65	-50.253	-63.488	-76.723
1000	**35**	29.567	16.331	-3.096
	50	8.590	-4.645	-17.881
	65	-12.387	-25.623	-38.857
1300	**35**	67.433	54.197	40.962
	50	46.456	33.220	19.985
	65	25.479	12.243	-992

A modo de resumen, con los valores indicados parece posible la producción de terneros lechales como alternativa a la producción de leche en explotaciones de vacuno de raza Parda, siempre y cuando la comercialización de la carne permita el pago de la canal a los precios indicados, sensiblemente superiores a la realidad actual del mercado. Por otra parte, la dimensión de las explotaciones ha de ser tenida en consideración para lograr unos ingresos por la actividad ganadera y el empleo de la mano de obra, capaz de mantener la unidad familiar sobre la que se asientan este tipo de explotaciones ganaderas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto INIA SC99-013-C2-2.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mantecón, A.R., López, J., Lavín, P., Cerdeño, A., Giráldez, F.J. (2001). *ITEA,* Volumen Extra 22.

Mantecón, A.R., López, J., Cerdeño, A., Gómez, A., Vieira, C. (2001). *ITEA,* Volumen Extra 22.

Serrano, E., Lavín, P., Martín, C., López, J. y Mantecón, A.R. (1999). *ITEA*, Volumen Extra 20, 744-746.

SAS (1989). *SAS/STAT User's Guide Int.* (Version 6, 4th ed.). SAS Institute Inc. Cary. NC.

EVOLUCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS DATOS TECNICO-ECONÓMICOS EN LAS EXPLOTACIONES DE VACUNO DE LECHE EN LA C.A.P.V. (1996-1999).

L.Nafarrate(1), S.Marijuán(1), M.Elgarresta(2), I. Arrieta(2), J.M. Lete(2), K. Garmendia(2), I. Zuriarrain(2), J. Garro(3), F. Solaguren(3), E. Mtz de Albeniz, K. Bilbao(3), P. Santamaría,(4), A. Garrastazu(4).

(1) SERGAL, La Paloma 6, 01004 Vitoria-Gasteiz (Araba)
(2) LURGINTZA, José Artetxe 3, 20730 Azpeitia (Gipuzkoa)
(3) LORRA, Bº Garaioltza 23, 48196 Lezama (Bizkaia)
(4) IKT S.A., Arkaute apdo 46 01080 Arkaute (Araba)

INTRODUCCIÓN

Ante las perspectivas del sector vacuno de leche que atraviesa por una fuerte reconversión, realizamos una revisión de los datos técnicos y económicos de las explotaciones inscritas en el programa de gestión, analizando la evolución de los mismos. Se debe tener en cuenta que las explotaciones de la muestra pertenecen a un grupo en situación de mayor viabilidad y por lo tanto de continuidad.

MATERIAL Y METODOS

Los datos analizados provienen de las explotaciones adscritas a los centros gestión de la CAV (Lorra, Lurgintza y Sergal). En estos se lleva a cabo el programa integrado de gestión técnica y económica: recogida de datos y asesoramiento técnico en las explotaciones e introducción y análisis de datos en los centros de cada territorio. Toda la información se centraliza posteriormente en el centro tecnológico y de investigación (IKT).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo 96-99 la caracterización de las explotaciones que estaban en el servicio de gestión técnico-económica de la CAV aparece en el siguiente cuadro:

Datos técnicos	1996	1997	1998	1999
Nº explotaciones	408	396	378	353
UTAs	1,9	1,9	1,9	1,9
Nº vacas/explot.	36,1	38	40,1	43,8
Litros explot.	235.896	259.670	282.676	320.719
Litros vaca/año	6.487	6.763	7.008	7.291
MB sobre alimentación comprada/vaca	199.221	192.432	209.718	216.032

Desciende el número de explotaciones de la muestra. La causa principal son los ceses de actividad que en los últimos años se han producido en este sector. Este dato queda confirmado en el Informe de la situación sobre el sector lácteo de las explotaciones de vacuno de leche con cuota que en estos mismos años ha evolucionado de la siguiente manera:

	1996	1997	1998	1999
Nº Explotaciones	3.317	2.511	1.812	1.775

Se mantiene el número de UTAs por explotación porque la gran mayoría son explotaciones familiares que tienen un sistema de trabajo constituido por personal de la propia familia e invariable a lo largo de los años.

El censo ha aumentado un 21% en estos años (7,7 vacas), acompañándose de un aumento de producción por animal del 4% anual (804 litros en el periodo).

Teniendo en cuenta los dos incrementos anteriores, la producción anual de leche por explotación es un 12% superior para cada uno de los años incluidos en el estudio (84.823 litros en global).

Por último comentar que el margen bruto sobre alimentación comprada por vaca se incrementa de media anual en un 2,8% a excepción del año 97 que fue un año particularmente malo disparándose los gastos de piensos y sin aumento en los ingresos. Este parámetro indica el dinero que queda por vaca tras cobrar la leche y pagar la alimentación ajena.

En cuanto a los resultados económicos y la distribución de los ingresos y gastos en las explotaciones a lo largo de estos 4 años se reflejan en la tabla siguiente, dándose todos los resultados en ptas. por litro de leche:

	1996	1997	1998	1999
Venta de leche	46,49	46,52	48,06	48,13
Venta de carne	3,37	3,43	3,13	2,69
Venta/compra de ganado + diferencia de inventario	3,89	2,1	2,28	2,33
Subvenciones	3,01	1,83	1,63	1,94
Otros ingresos	2,07	2,2	2,64	2,34
Total ingresos	**58,83**	**56,07**	**57,73**	**57,43**
Piensos y concentrados vacas	16,58	17,35	17,73	17,31
Forrajes comprados	1,96	1,79	1,67	1,9
Concentrados Recría y cebo	4,38	4,47	4,01	3,99
Forrajes propios	2,03	1,91	1,71	1,61
Veterinario, medicinas, inseminac.	1	1	0,93	0,98
Otros variables (1)	0,56	0,51	0,51	0,56
Gastos variables	**26,64**	**27,02**	**26,69**	**26,66**
Reparación y conservación	1,57	1,46	1,46	1,57
Rentas	0,72	0,77	0,75	0,69
Intereses	1,86	1,84	1,62	1,45
Amortizaciones técnicas	5,12	5,13	5,06	4,91
Otros gastos fijos (2)	2,78	2,61	2,64	2,68
Gastos fijos	**12,05**	**11,8**	**11,53**	**11,31**
Gastos totales	**38,69**	**38,82**	**38,22**	**37,97**

(1) Otros variables: Incluyen gastos de ordeño, camas, comercialización, cuotas variables...etc.
(2) Otros fijos: utillaje, luz, agua, teléfono, contribuciones, seguros, cuotas fijas...etc.

En los últimos cuatro años la subida de leche ha sido en total de un 3,5%, esto supone una subida interanual del 1,16%, lo que unido a la caída del precio de la carne supone una pérdida de valor adquisitivo del sector vacuno de leche.

En al apartado subvenciones destacar la desaparición de la ayuda directa a las rentas a partir del año 97, manteniéndose el importe global del resto de subvenciones lo que ayuda a que el ingreso total por litro de leche en el año 1999 haya sido 1,4 ptas. inferior al del año de inicio.

En cuanto a los gastos variables se ve que prácticamente no hay diferencia en el global de los mismos en estos años. Sin embargo analizando estos gastos individualmente si se ve un aumento del gasto en alimentación comprada del año 96 al 97, coincidiendo con la entrada en algunas explotaciones de mezclas secas. A partir del año 97 la tendencia es a mantener estos gastos. En cuanto al gasto en forrajes propios desciende en 0,4 ptas./l. Esto viene explicado porque al no aumentar a lo largo de los años la superficie dedicada a la producción de forrajes y sí tanto el censo como la producción total y unitaria de leche por vaca, la relación ptas. gastadas por litro es inferior.

Los gastos fijos tienen una ligera tendencia a la baja. Esto se debe principalmente a la disminución del gasto de amortizaciones técnicas y de los gastos financieros. La explicación es una adecuación de las inversiones al tamaño de las explotaciones, invirtiéndose tanto en maquinaria como en instalaciones teniendo en cuenta la dimensión del censo ganadero y de la superficie. En cuanto a los intereses, la tendencia es igual a del mercado.

	1996	1997	1998	1999
Margen Bruto	27,11	25,03	26,77	26,49
Margen neto	20,14	17,26	19,51	19,46

El margen bruto, ingresos variables o directos de la explotación menos los gastos variables ha tenido una tendencia a la baja debida al descenso de los ingresos (ventas de carne, ganado y diferencia de inventario) y a la ligera subida de los gastos variables.

El margen neto, disminuye en un 3,4% en los cuatro años de estudio. Esto se relaciona con la bajada del resto de los ingresos de la actividad no compensados por la subida del precio de la leche ni por el pequeño descenso en gastos totales.

Al margen de estos datos hay que considerar para el cálculo de disponibilidad empresarial el coste de la mano de obra, sueldos y seguridad social, que a lo largo de estos años ha estado alrededor de las 3 pts/l contabilizando tanto seguridad social agraria como salarios.

Resumiendo, para mantener el nivel de renta, el precio de la leche de una explotación de este sector y en esta comunidad debería haberse incrementado al menos en un 10%.

BIBLIOGRAFÍA

SERGAL (ASGAFAL), Memorias anuales 96-99.
LURGINTZA, Memorias anuales 96-99.
LORRA, Memorias anuales 96-99.
IKT, Informe de situación del sector vacuno de leche 2000.

EVOLUCIÓN Y ANÁLISIS DE LOS DATOS TECNICO-ECONÓMICOS EN LAS EXPLOTACIONES DE OVINO DE LECHE EN LA C.A.P.V. (1997-1999).

L.Nafarrate(1), S.Marijuán(1), M.Elgarresta(2), I. Arrieta(2), J.M. Lete(2), K. Garmendia(2), I. Zuriarrain(2), J. Garro(3), F. Solaguren(3), E. Mtz de Albeniz, K. Bilbao(3), P. Santamaría,(4), A. Garrastazu(4).

(1) SERGAL, La Paloma 6, 01004 Vitoria-Gasteiz (Araba)
(2) LURGINTZA, José Artetxe 3, 20730 Azpeitia (Gipuzkoa)
(3) LORRA, Bº Garaioltza 23, 48196 Lezama (Bizkaia)
(4) IKT S.A., Arkaute apdo 46 01080 Arkaute (Araba)

INTRODUCCIÓN

El sector de ovino de leche en el País Vasco es un sector en alza tanto en su producción, 1,9% de incremento en el último año respecto al anterior, como en su censo ganadero.

Paralelamente esto se ha acompañado de un aumento de la demanda por parte de algunas explotaciones de un asesoramiento técnico y económico cuyo objetivo es facilitar la gestión de estas empresas.

MATERIAL Y METODOS

Los datos analizados proceden de las explotaciones adscritas a los centros gestión de la CAV (Lorra, Lurgintza y Sergal) en los años 1997, 1998 y 1999. En estos se lleva a cabo el programa integrado de gestión técnica y económica: recogida de datos y asesoramiento técnico en las explotaciones e introducción y análisis de datos en los centros de cada territorio. Toda la información se centraliza posteriormente en el centro tecnológico y de investigación (IKT).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las explotaciones de ovino de leche sobre las que se realiza el estudio responden a las siguientes características:

INDICES TECNICOS	1997	1998	1999
Nº Explotaciones	34	34	46
UTAs	1,9	1,8	1,75
Nº ovejas/explotación	384	425	382
Litros/oveja productiva/año	62,4	67,8	74,73
Litros explotación	23.760	28.575	28.673

La muestra de explotaciones en gestión como se ve todavía no está estabilizada y continua en aumento, con lo cual la caracterización se va modificando en función de las explotaciones del año. El número de ovejas productivas, es decir mayores del año, está alrededor de las 400, observando un aumento de los litros totales de la explotación (4.913 litros por explotación)y por tanto la producción unitaria por animal productivo (20% de incremento en el periodo).

INDICES ECONOMICOS	1997	1998	1999
Ptas./l.leche (central + directa)	148	155	157
Ptas. l. Leche (Queso)	245	251	255
Ptas. kg de concentrado	33,2	32,7	30,1
Ptas. kg de queso	1.549	1.568	1.593
Gtos de alimentación comprada/oveja	4.178	4.210	4.565
MB sobre alim comprada/oveja	12.328	14.144	15.616

La orientación comercial de estas explotaciones puede ser tanto la venta directa de leche, como la venta a central o la venta de queso. Esta orientación marca claramente una diferencia de precios en el producto de venta, de tal forma que la media del precio central/ directa tiene una diferencia de hasta 62 ptas/l en el último año.

El precio del kilogramo de queso se incrementa en un 2,8%, inferior al sufrido por el precio medio de la leche 6%.

Los gastos en alimentación comprada por oveja aumentan al mismo tiempo que la producción. Como tanto la producción como los ingresos han aumentado, este incremento en los gastos no ha supuesto una merma en el margen.

En cuanto a los resultados económicos y la distribución de los ingresos y gastos en las explotaciones a lo largo de estos 3 años se reflejan en la tabla siguiente, dándose todos los resultados en ptas por oveja productiva:

	1997	1998	1999
Venta de leche	3.472	3.976	4.709
Venta de queso y dif. almacen	9.263	10.433	11.178
Venta de corderos y lana	3.888	4.059	4.338
Venta/compra de ganado	440	861	341
Subvenciones	4.619	5.488	7.107
Total ingresos	**21.682**	**24.817**	**27.673**
Gastos alimentación ov + recría	4.476	4.576	5.049
Forrajes propios	1.169	1.102	730
Otros variables (1)	1.186	1.306	1.400
Gastos variables	**6.831**	**6.984**	**7.179**
Reparación y conservación	569	922	845
Rentas	467	572	857
Intereses	908	806	767
Amortizaciones técnicas	3.054	3.122	3.120
Otros gastos fijos (2)	1195	1315	1498
Gastos fijos	**6193**	**6737**	**7087**
Gastos totales	**13024**	**13721**	**14266**

(1) Otros variables: Incluyen veterinario, medicinas, IA, gastos de ordeño, camas, comercialización, cuotas variables...etc.

(2) Otros fijos: utillaje, luz, agua, teléfono, contribuciones, seguros, cuotas fijas...etc.

En cuanto a los ingresos han aumentado de forma importante y homogénea. El producto principal, vendido tanto en crudo como transformado a

queso, se ha revalorizado por ser un artículo que tiene asegurado el mercado por su calidad y por su origen controlado.

Los ingresos por venta de corderos crecen debido tanto a la subida del precio como al aumento en la prolificidad del rebaño, esto último causado por el incremento en el uso de tratamientos de sincronización e inseminación artificial.

Las subvenciones más cuantiosas percibidas por el sector ovino proceden del FEOGA y el incremento de estas ha sido lo que ha marcado la tendencia.

Los gastos variables, los relacionados directamente con el ganado, se incrementan aproximadamente en un 5%. Con una subida más importante en los gastos varios, principalmente inseminaciones y también en la comercialización ya que la mayoría de los nuevos socios son elaboradores de queso. El gasto de alimentación en su globalidad se mantiene, pero hay un incremento en el consumo y gasto de alimentación comprada que se ve compensado con una disminución en los gastos en forrajes propios (igual gasto con mayor superficie).

Los gastos fijos totales aumentan en un 15% debido a que los gastos en reparación-conservación y los arrendamientos unitarios suben.

Por otra parte, los gastos fijos indicativos de las inversiones de las explotaciones, suponen prácticamente el 50% del total de estos gastos, lo que señala la existencia de un sobredimensionamiento de las inversiones. Este dimensionamiento desmesurado sea quizás no tanto por el importe global sino por la utilización de estas estructuras durante un corto periodo de producción (8 meses máximo de campaña).

	1997	1998	1999
Margen Bruto	10.231	12.346	13.387
Margen neto	8.658	11.097	13.407

Para finalizar, la tendencia de los márgenes de esta actividad es positiva, lo cual permite aseverar que es una actividad con un futuro prometedor. Lo que llama la atención es que el importe de gastos variables y fijos, teniendo en cuenta su origen, sea prácticamente similar. Esto da lugar a un margen neto de valor similar al margen bruto, mantenido por lo que representan en los ingresos las subvenciones.

Además de estos datos hay que considerar para el cálculo de disponibilidad empresarial el coste de la mano de obra, sueldos y seguridad social, que a lo largo de estos años ha estado alrededor de las 850 ptas. por oveja y año.

Como apunte añadido y brevemente comentado por falta de espacio hacer referencia a la gran diferencia de resultados, principalmente en ingresos y en ambos márgenes entre las explotaciones según su sistema de venta. La rentabilidad sigue un orden creciente venta de leche a central, venta directa y venta de queso.

BIBLIOGRAFÍA

SERGAL (AGORALA), Memorias anuales 96-99.
LURGINTZA, Memorias anuales 96-99.
LORRA, Memorias anuales 96-99.

CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS DE LAS EXPLOTACIONES DE GANADO VACUNO DE CARNE DE LA MONTAÑA DE LEÓN

E. Serrano, P. Lavín, A. Cerdeño y A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788 24080 León.

INTRODUCCIÓN

Las explotaciones ganaderas de la montaña de León han experimentado en los últimos años intensos procesos de cambio para adaptarse a las condiciones socioeconómicas imperantes. Estos procesos han llevado a una transformación y diversificación de los sistemas de producción existentes (Manrique *et al*, 1992).

El objetivo de este trabajo es caracterizar los distintos tipos de sistemas de producción de las explotaciones productoras de carne de vacuno ubicadas en la Comarca de Montaña de Riaño, en la provincia de León.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados fueron obtenidos mediante la realización de encuestas y visitas mensuales en las explotaciones y corresponden al año 1998. Todas las explotaciones estudiadas están integradas en un núcleo de productores de carne de vacuno y la información analizada corresponde al tercer año de seguimiento de las explotaciones. Aunque el número total de explotaciones estudiadas fue de 90, la información analizada en este trabajo preliminar procede únicamente de 25 explotaciones consideradas representativas del total.

Como parámetros descriptivos de la estructura de las explotaciones se consideraron: el número de vacas reproductoras, de 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), los litros de cuota láctea asignada a la explotación, los litros de leche vendidos anualmente y el número de terneros producidos.

Se analizó también información correspondiente a los ingresos de las explotaciones. Para su análisis los ingresos totales de las explotaciones se dividieron en: venta de terneros, de reproductoras adultas para vida, de reproductoras adultas para sacrificio, leche, subvenciones, capitalización ganadera (estimación del valor económico de la variación en el censo de animales de la explotación en el año de estudio) e ingresos derivados de otras actividades agrícolas o ganaderas.

Se establecieron cuatro grupos de explotaciones identificadas como explotaciones de orientación productiva ***leche*** (sus ingresos proceden mayoritariamente de la venta de leche, todas las reproductoras de la explotación se ordeñan y los terneros se destetan con edades comprendidas entre 1 y 2 meses de vida), ***mixta*** (combinan el amamantamiento del ternero con el ordeño en todas las vacas de la explotación), ***leche-carne*** (cuentan con dos rebaños diferenciados, uno de orientación productiva carne y otro de leche) y ***carne*** (producen únicamente carne).

En el análisis de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de reproductoras por explotación fue significativamente mayor ($p<0,05$) en las explotaciones de orientación productiva leche-carne respecto a las de orientación productiva leche y mixta (56,0 ± 12,19 *vs* 26,0 ± 2,86 y 20,6 ± 1,99 reproductoras / explotación, respectivamente). El tamaño medio de las explotaciones

de carne (41,4 ± 7,09) no fue significativamente distinto de el de los otros tres tipos de explotaciones.

Pese a las diferencias observadas en el tamaño de las explotaciones no se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los valores medios de UTA / explotación entre las orientaciones productivas consideradas (1,775 ± 0,4115; 2,091 ± 0,2646; 1,975 ± 0,1392 y 1,223 ± 0,1633 para las explotaciones de leche, mixtas, carne-leche y carne, respectivamente). Expresando los valores de UTA en función del número de reproductoras sí se observan diferencias significativas (p<0,01) entre las explotaciones de orientación productiva leche y carne (0,076 vs 0,036 UTA / reproductora), y en las mixtas respecto a las de orientación productiva leche-carne y carne (0,103 vs 0,041 y 0,036 UTA / reproductora).

El número de vacas nodrizas fue, en términos absolutos, significativamente mayor (p<0,01) en las explotaciones de carne que en las de orientación productiva mixta y leche (30,2 vs 11,2 y 9,2), y en términos relativos (como % del número de reproductoras), fue significativamente mayor (p<0,001) al del resto de orientaciones productivas (73 vs 43, 45 y 42 %).

Tabla 1: Parámetros productivos de las explotaciones clasificadas en función de su orientación productiva.

	ORIENTACION PRODUCTIVA				
	Leche N=5	**Mixta** N=5	**Leche-carne** N=5	**Carne** N=10	**Nivel de Significación**
UTA / reproductora	0,076 ± 0,0233^{ab}	0,103 ± 0,0120^{a}	0,041 ± 0,0067^{bc}	0,036 ± 0,0054^{c}	**
Nodrizas / explotación	11,2 ± 1,65^{b}	9,2 ± 1,91^{b}	18,5 ± 2,88^{ab}	30,2 ± 5,29^{a}	**
% de nodrizas	42,65 ± 3,990^{b}	45,43 ± 10,153^{b}	42,22 ± 6,064^{b}	73,44 ± 4,428^{a}	***
Litros de cuota láctea	42918 ± 12443,6^{a}	29700 ± 4431,2^{b}	63404 ± 24171,1^{a}		**
Litros de leche vendidos	52302 ± 12707,3^{a}	27960 ± 8705,6^{b}	63298 27182,7^{a}		**
Litros vendidos / reproductora	2139 ± 592,2^{a}	1296 ± 280,2^{b}	998 ± 208,5^{b}		***
Nº de terneros vendidos	14,8 ± 1,43	11,8 ± 1,59	30,2 ± 9,82	24,2 ± 4,81	n.s.

n.s.=No significativo.**=P<0,01. ***=P<0,001. ^{a,b,c}, Valores con distintos superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamete significativas.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, los valores medios de litros de cuota láctea y de litros de leche vendidos correspondientes a las explotaciones de orientación productiva leche y leche-carne fueron similares y significativamente (p<0,01) mayores a los de las explotaciones de orientación productiva mixta. A este respecto es interesante destacar también que en el caso de las explotaciones de leche la producción real (litros de leche vendidos) de las 5 explotaciones consideradas fue superior a la cuota asignada. Esta situación contrasta con la observada en el grupo de explotaciones mixtas en el que la producción de leche de 4 de las 5 explotaciones estudiadas se situó por debajo de la cuota asignada.

El número medio de litros de leche vendidos por reproductora fue similar para las explotaciones de orientación productiva mixta y leche-carne (1296 y 998 litros respectivamente) y significativamente (p<0,001) menor al de las explotaciones de orientación productiva leche (2139 litros).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de terneros producidos entre los cuatros grupos de explotaciones considerados.

Como se observa en la Tabla 2, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el valor medio de los ingresos totales de las explotaciones entre las distintas orientaciones productivas, pese a las diferencias en el tamaño de las explotaciones. Los ingresos por la venta de leche de las explotaciones mixtas fueron,

como cabría esperar, significativamente ($p<0,01$) menores a los de las explotaciones de orientación productiva leche y leche-carne. La cuantía de los ingresos por subvenciones fue significativamente ($p<0,05$) menor en las explotaciones mixtas respecto a las explotaciones de orientación productiva leche-carne y carne.

Tabla 2: Ingresos anuales de las explotaciones clasificadas en función de su orientación productiva.

	ORIENTACION PRODUCTIVA				
	Leche N=5	Mixta N=5	Leche-carne N=5	Carne N=10	Nivel de Significación
	Ingresos anuales (.000 de pesetas / explotación)				
Ing. totales	5.413 ± 765,1	3.516 ± 601,7	10.559 ± 3.839,7	5.648 ± 949,7	n.s.
Terneros	1.598 ± 204,3	1.160 ± 209,0	3.612 ± 1.216,2	2.900 ± 573,8	n.s.
Reprod. vida	325 ± 265,0	489 ± 217,2	372 ± 302,6	20 ± 20,0	n.s.
Reprod. sacrificio	188 ± 87,0	258 ± 99,8	306 ± 132,5	187 ± 54,2	n.s.
Leche	2.604 ± 720,7 ^{a}	1.200 ± 472,3 ^{b}	2.865 ± 1.303,7 ^{a}		**
Subvenciones	642 ± 116,7 ^{ab}	467 ± 103,1 ^{b}	1.423 ± 494,7 ^{a}	1.357 ± 215,7 ^{a}	*
Capitalización	10 ± 135,5 ^{b}	-160 ± 268,0 ^{b}	1.760 ± 839,1 ^{a}	918 ± 342,7 ^{ab}	†
Otros	44 ± 44,0	99 ± 42,7	218 ± 129,7	444 ± 107,2	n.s.
	% de los Ingresos Totales				
Terneros	32,01 ± 5,822 ^{c}	35,26 ± 5,719 ^{ab}	37,12 ± 5,294 ^{ab}	52,48 ± 5,396 ^{a}	†
Adultos vida	4,72 ± 3,931 ^{b}	16,21 ± 6,731 ^{a}	3,90 ± 2,909 ^{b}	0,31 ± 0,308 ^{b}	*
Adultos sacrificio	3,93 ± 1,988	6,80 ± 1,930	2,61 ± 1,053	4,39 ± 1,191	n.s.
Leche	45,00 ± 7,360 ^{a}	33,55 ± 8,348 ^{ab}	24,90 ± 3,365 ^{b}		***
Subvenciones	12,70 ± 2,592 ^{b}	14,30 ± 3,377 ^{b}	14,02 ± 1,656 ^{b}	26,55 ± 2,231 ^{a}	***
Capitalización	1,05 ± 3,162	-6,13 ± 11,49	16,76 ± 9,050	15,76 ± 6,868	n.s.
Otros	0,57 ± 0,574	3,03 ± 1,268	1,41 ± 0,740	4,40 ± 2,028	n.s.

n.s.=No significativo. †= P<0,1. *=P<0,05. **=P<0,01. ***=P<0,001. ^{a,b,c}. Valores con distintos superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas.

Expresando los distintos tipos de ingresos como porcentaje de los ingresos totales de las explotaciones sólo se observan diferencias significativas ($p<0,05$) en los ingresos por venta de reproductoras para vida, en los ingresos por venta de leche y en los ingresos por subvenciones.

A modo de conclusión, se puede decir que el sistema tradicional mixto de explotación del ganado vacuno en la montaña de León ha derivado hacia 4 sistemas distintos y que la elección de cada uno de ellos está motivada por la acción conjunta de varios condicionantes, entre los que destacan la disponibilidad de mano de obra, la disponibilidad de cuota de producción de leche o la posibilidad de complementar los ingresos obtenidos a través de 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

MANRIQUE, E.; REVILLA, R.; OLAIZOLA, A. y BERNUES, A. Bovis nº 46, Junio 1992.

SAS. 1989. SAS/STAT® User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.) SAS Inst.Inc., Cary, NC.

RENTABILIDAD ECONÓMICA DE LAS EXPLOTACIONES DE GANADO VACUNO DE CARNE DE LA MONTAÑA DE LEÓN

E. Serrano, P. Lavín, A. Cerdeño, F. J. Giráldez y A. R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo 788 24080 León.

INTRODUCCIÓN

La evolución de los sistemas de producción ganadera y la continuidad de las explotaciones están determinados, en gran medida, por criterios de rentabilidad económica (Yiridoe & Weersink, 1997).

Teniendo en cuenta este planteamiento el objetivo de este trabajo es analizar la rentabilidad económica de explotaciones productoras de carne de vacuno ubicadas en la Comarca de Montaña de Riaño, en la provincia de León, en función de su orientación productiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos utilizados fueron obtenidos mediante la realización de encuestas en las explotaciones y corresponden al año 1998.

La información utilizada procede de un total de 25 explotaciones que fueron clasificadas para su estudio en cuatro grupos en función de su orientación productiva: explotaciones de orientación productiva ***leche*** (5 explotaciones), explotaciones de orientación productiva ***mixta*** (5 explotaciones), explotaciones de orientación productiva ***leche-carne*** (5 explotaciones) y explotaciones de orientación productiva ***carne*** (10 explotaciones).

Para analizar la rentabilidad económica de las explotaciones se consideraron los beneficios anuales totales (ingresos totales menos gastos brutos) y los beneficios anuales sin subvenciones (beneficios totales menos ingresos por subvenciones) expresados en pesetas / explotación, pesetas / reproductora y pesetas / UTA (UTA: trabajo efectuado por una persona dedicada a tiempo completo durante un año a la actividad agraria).

Para el análisis de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número medio de reproductoras / explotación de los cuatro grupos de explotaciones considerados fue aproximadamente de 26, 21, 56 y 41, para las orientaciones productivas leche, mixta, leche-carne y carne, respectivamente. El número de reproductoras por explotación osciló entre 19 y 34 para las explotaciones de orientación productiva leche, entre 16 y 28 para las explotaciones de orientación productiva mixta, entre 31 y 102 para las explotaciones de orientación productiva leche-carne y entre 8 y 89 para las explotaciones de orientación productiva carne.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, a pesar de los amplios márgenes de variación en el número de reproductoras por explotación existen diferencias significativas ($p<0,05$) en este parámetro entre las distintas orientaciones productivas. El número de reproductoras de las explotaciones de la orientación productiva leche-carne fue significativamente mayor al de las explotaciones de orientación productiva leche y mixta.

A pesar de las diferencias en el número de reproductoras / explotación no se observaron diferencias significativas ($p>0,05$) en el número medio de UTA / explotación entre las distintas orientaciones productivas.

No se observaron diferencias significativas (p>0,05) en los beneficios anuales totales y sin subvenciones por explotación, entre los cuatro grupos considerados.

Tabla 1: Beneficios anuales de las explotaciones clasificadas en función de su orientación productiva (en .000 de pesetas)

	ORIENTACIÓN PRODUCTIVA				
	Leche N=4	Mixta N=5	Leche-carne N=6	Carne N=10	Nivel de Significación
Nº de Reproductoras / explotación	26±2,86[b]	20,6±1,99[b]	56,0±12,19[a]	41,4±7,09[ab]	*
UTA / explotación	1,775 ± 0,4115	2,091 ± 0,2646	1,975 ± 0,1392	1,223 ± 0,1633	n.s.
			pesetas / explotación		
Beneficios totales	2.727 ± 476,0	1.683 ± 247,9	5.804 ± 2.557,2	3.545 ± 722,3	n.s.
Beneficios sin subvenciones	2.084 ± 473,0	1.215 ± 237,1	4.380 ± 2.071,3	2.187 ± 528,2	n.s.
			pesetas / reproductora		
Beneficios totales	109 ± 24,6	83 ± 12,3	90 ± 17,2	83 ± 8,9	n.s.
Beneficios sin subvenciones	84 ± 25,9	60 ± 12,7	66 ± 14,5	49 ± 7,9	n.s.
			pesetas / UTA		
Beneficios totales	1.879 ± 420,5[ab]	880 ± 165,8 [b]	2.945 ± 1.296,7 [a]	2.847 ± 470,2 [a]	†
Beneficios sin subvenciones	1.427 ± 344,0	650 ± 147,9	2.214 ± 1.028,0	1.679 ± 370,5	n.s

n.s.=No significativo. †=p<0,1 *=p<0,05. [a,b], Valores con distintos superíndices en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas.

Como cabría esperar, dado el amplio rango de variación en el número de reproductoras por explotación, tanto los beneficios anuales totales como los beneficios sin subvenciones por explotación, presentaron una gran variación entre explotaciones pertenecientes a la misma orientación productiva. En el caso de los beneficios anuales totales, los valores oscilaron para el grupo de explotaciones de orientación productiva leche entre 1.262.028 y 3.688.030 pesetas, para el grupo de explotaciones mixtas entre 789.709 y 2.139.250 pesetas, para el grupo de explotaciones de orientación productiva leche-carne entre 2.545.625 y 15.905.463 pesetas y para el grupo de explotaciones de carne entre 605.885 y 7.916.010 pesetas.

Los ingresos por subvenciones supusieron, aproximadamente, un 26, 30, 27 y 43 % de los beneficios totales de las explotaciones de orientación productiva leche, mixta, leche-carne y carne, respectivamente. Aunque las diferencias no fueron significativas, se aprecia una tendencia (p<0,1) a un mayor porcentaje de ingresos por subvenciones en los beneficios totales de las explotaciones de carne.

Tampoco se observan diferencias significativas en los beneficios totales y sin subvenciones expresados en función del número de reproductoras de la explotación entre las distintas orientaciones productivas. Los beneficios totales por reproductora oscilaron dentro del grupo de explotaciones de orientación productiva leche entre 60.097 y 202.267 pesetas, dentro del grupo de explotaciones mixtas entre 39.485 y 105.963 pesetas, dentro del grupo de explotaciones de orientación productiva leche-

carne entre 56.059 y 155.936 pesetas y dentro del grupo de orientación productiva carne entre 55.936 y 127.223 pesetas.

Expresando los beneficios totales en función del número de UTA de la explotación se observa una tendencia ($p<0,1$) a unos menores beneficios totales / UTA en el caso de las explotaciones mixtas respecto a las explotaciones de orientación productiva leche-carne y carne.

Teniendo en cuenta los anteriores valores de beneficios totales por reproductora, es posible estimar el número de reproductoras necesario para alcanzar unos beneficios totales anuales equivalentes a 2 veces el salario mínimo interprofesional (1.905.520 pesetas) para cada orientación productiva.El número de reproductoras necesario para alcanzar unos beneficios anuales por explotación equivalentes al doble del salario mínimo interprofesional osciló, aproximadamente, entre 9 y 32; 18 y 48; 12 y 34; 15 y 34 para las orientaciones productivas leche, mixta, leche-carne y carne, respectivamente.

Si tenemos en cuenta que el número de reproductoras / UTA varió, aproximadamente, entre 6 y 25; 7 y 12; 17 y 50; 12 y 50 para las orientaciones productivas leche, mixta, leche-carne y carne, respectivamente, se deduce que ninguna de las explotaciones de orientación productiva mixta alcanzó los niveles de rentabilidad equivalentes a dos veces el salario mínimo interprofesional.

En conjunto, es posible deducir que el sistema mixto tradicional de vacuno de la montaña de León ha seguido distintas pautas de especialización con la finalidad de aumentar la rentabilidad económica de las explotaciones que han llevado a la transformación de las explotaciones mixtas tradicionales en las actuales explotaciones de orientación productiva leche, leche-carne y carne.

En el caso de las explotaciones de orientación productiva leche se ha optado por la especialización en la producción de leche, y como actividad complementaria, ante la imposibilidad de incrementar el volumen de producción de leche, se ceban los terneros que en otras condiciones eran vendidos como mamones. En el caso de las explotaciones de orientación productiva leche-carne, la misma limitación se solventa incrementando el número de reproductoras de la explotación sumando al rebaño de reproductoras de orientación productiva leche un rebaño de orientación exclusivamente cárnica. En las explotaciones de orientación productiva carne la opción elegida consiste, por un lado, en la especialización en la producción de carne y, por otro, en maximizar el complemento a los ingresos obtenido por las 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

YIRIDOE, K. E. and WEERSINK, A. (1997). "A review and evaluation of agroecosystems health analysis: the role of economics" *Agricultural Systems*, 55(4): 601-626.

SAS. 1989. SAS/STAT® User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.) SAS Inst.Inc., Cary, NC.

ESTIMACIÓN DE LAS ENTRADAS Y SALIDAS AL SISTEMA ECONÓMICO-CINEGÉTICO DE CASTILLA-LA MANCHA

Bernabéu, R.; Olmeda, M.; Castillo, S.
Instituto de Desarrollo Regional (UCLM)
Campus Universitario s/n, 02071 Albacete

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la importancia económica de la actividad cinegética en España, es de destacar los intentos de cuantificar los ingresos que genera, tanto desde un punto de vista de la Administración en su conjunto como desde el punto de vista de los autores de investigación socioeconómica. En el ámbito nacional, Buxadé y Notario (1997), estiman que, en 1996, el *valor directo de las piezas cobradas* ha podido superar los 10.000 millones de pesetas y los denominados *ingresos complementarios* (ingresos percibidos por la utilización cinegética de las tierras, con exclusión del valor de las piezas), los 18.000 millones de pesetas. Si se tiene en cuenta, además, todo el dinero que se mueve *alrededor* de la actividad cinegética (desplazamientos, comidas, equipamiento, etc.) la cifra global total, probablemente, supere los doscientos mil millones anuales. Desde el punto de vista de la Administración (MAPA, 1997), en el año 1995, en España se expidieron 1.320.315 licencias de caza que generaron unos ingresos de 2.930,7 millones de pesetas, estimándose el valor de las piezas cobradas en España en 11.416 millones de pesetas y los ingresos complementarios en 16.217,3 millones de pesetas. En el ámbito regional, Molina (1989) estimó para Castilla-La Mancha una cifra de aproximadamente 25.000 millones de pesetas de recursos movilizados por la actividad cinegética y donde se incluyen la evaluación de rentas, salarios e impuestos que se mueven alrededor de la caza en la región. Asimismo, Otero (1995), estimó que en 1991 la facturación anual de la actividad cinegética rondó los 37.000 millones de pesetas en Castilla-La Mancha. Asimismo, este autor estimó el potencial futuro de la actividad cinegética en 5.000 empleos fijos asociados directamente a la caza, pudiendo sobrepasar los 1,5 millones de jornales/año los empleos eventuales, y la facturación anual para el conjunto de Castilla-La Mancha podría superar los 52.000 millones de pesetas.

Hoy en día, la actividad cinegética se configura como una actividad económica y recreativa para unos y generadora de rentas y empleos para otros, se puede describir como un sistema económico-cinegético. Las entradas al sistema económico-cinegético son debidas al importe de los gastos del cazador y al importe por el valor de la carne de las piezas cobradas. El importe de los gastos del cazador pueden ser considerados como la suma de los *gastos legales* (licencia de caza, seguro de responsabilidad civil y permiso de armas), *gasto de acceso* (número de monterías y ojeos y su precio) y *gasto por actividad* (gasto en armería, gasto en desplazamiento, gasto en hostelería, gasto en vestuario, etc.). El presente trabajo tiene como objetivo determinar el gasto total de los cazadores y junto con el importe del valor de la carne de caza estimado por la Administración Autonómica, determinar cuáles son las entradas y las salidas del sistema económico-cinegético de Castilla-La Mancha.

2. METODOLOGÍA

El trabajo se realizó a través de encuestas a cazadores y propietarios (o titulares) de cotos privados de caza de la provincia de Ciudad Real, considerándose como variables relevantes del gasto por actividad del cazador los gastos en: armería, desplazamiento, guante, hostelería, vestuario, taxidermia y otros (cuota de coto, de la asociación de cazadores, etc.). El muestreo, para un nivel de confianza del 95,5% (k=2), en una población finita, para no incurrir en un error superior al 6%, se realizaron 267 encuestas a cazadores con licencia y 254 encuestas a propietarios y/o titulares de cotos privados de caza. El trabajo de campo se desarrolló durante los dos primeros meses de 1997.

Los cazadores, en función del tipo de caza practicada (menor o mayor), se agruparon en segmentos. Esta división permitió clasificar al cazador y determinar el gasto en armería, desplazamiento, hostelería, taxidermia, vestuario, guante y otros en los que incurre el cazador, en función del tipo de caza practicada. De igual forma,

se clasificaron a los propietarios y/o titulares cinegéticos en función del tipo de coto, obteniéndose como principal información económica el precio del puesto de caza. El procesamiento informático de la información se realizó con el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 7.5 (SPSS Inc., 1996).

3. RESULTADOS

El gasto total estimado es la suma de los gastos totales estimados en caza menor y en caza mayor. Los gastos totales en caza menor corresponden a los gastos por armería, desplazamiento, guante, hostelería, taxidermia, vestuario y otros (Cuadro 1), los gastos por tasas por expedición de licencias de caza, seguro de responsabilidad civil y permiso de armas (Cuadro 2), y gastos por puestos en las cacerías.

CUADRO 1
ESTIMACIÓN DEL *GASTO POR ACTIVIDAD*. CAZADORES DE CAZA MENOR

LICENCIAS	Nº licencias de caza	CME_e (ptas.)	CME_{ne} (ptas.)	TOTAL(ptas.)
Licencias *clase 1* (armas de fuego)	186.442	41.142	66.962	6.306.599.863
Licencias *clase 2* (sin armas de fuego)	7.145	14.907*	41.731*	96.953.500
TOTAL	193.587			6.403.553.363

* Para la determinación del gasto en los cazadores de la licencia clase 2, se ha prescindido del gasto en armería de los cazadores de caza menor exclusivos (CME_e) y no exclusivos (CME_{ne}),

CUADRO 2
ESTIMACIÓN DEL *GASTO LEGAL*. CAZADORES DE CAZA MENOR

LICENCIAS	Nº licencias de caza	TOTAL (ptas.)
Licencias *clase 1*		
♦ Sin recargo	117.709	178.070.175
♦ Con recargo	68.733	207.958.565
Licencias *clase 2*		
♦ Sin recargo	7.069	10.693.983
♦ Con recargo	76	229.946
Seguro de responsabilidad civil	193.587	525.104.738
Permiso de armas	186.442	158.941.805
TOTAL	193.587	1.080.999.212

El gasto de los cazadores de caza menor en Castilla-La Mancha, en la temporada cinegética 1996-1997, puede estimarse como la suma de los gastos que se muestran en los Cuadros 1 y 2, más 5.914.639.266 pesetas (gastos por puestos de las cacerías, determinados como el precio por el número de jornadas de caza), por lo que la cifra global resulta ser de 13.399.191.841 pesetas.

De igual manera, los gastos totales en caza mayor corresponden a los gastos por armería, desplazamiento, guante, hostelería, taxidermia y vestuario (Cuadro 3), los gastos por tasas por expedición de licencias de caza y seguro de responsabilidad civil (Cuadro 4), y gastos por puestos en las cacerías.

CUADRO 3
ESTIMACIÓN DEL *GASTO POR ACTIVIDAD*. CAZADORES DE CAZA MAYOR

LICENCIAS	Nº licencias de caza	CME_e (ptas.)	CME_{ne} (ptas.)	TOTAL(ptas.)
Licencias *clase 1* (armas de fuego)	186.442	59.143	60.343	2.509.558.727
Licencias *clase 2* (sin armas de fuego)	7.145	45.333*	43.580*	71.280.564
TOTAL	193.587			2.580.839.291

* Para la determinación del gasto en los cazadores de la licencia clase 2, se ha prescindido del gasto en armería de los cazadores de caza mayor exclusivos (CMA_e) y no exclusivos (CMA_{ne}),

CUADRO 4
ESTIMACIÓN DEL *GASTO LEGAL*. CAZADORES DE CAZA MAYOR

LICENCIAS	Nº licencias de caza	TOTAL (ptas.)
Licencias *clase 1*		
♦ Sin recargo	117.709	51.697.793
♦ Con recargo	68.733	60.375.067
Licencias *clase 2*		
♦ Sin recargo	7.069	3.104.705
♦ Con recargo	76	66.758
Seguro de responsabilidad civil	193.587	152.449.762
Permiso de armas	186.442	83.898.900
TOTAL	193.587	351.592.985

El gasto de los cazadores de caza mayor en Castilla-La Mancha, en la temporada cinegética 1996-1997, puede estimarse como la suma de los gastos que se muestran en los Cuadros 3 y 4, más 5.386.730.131 pesetas (gastos por puestos de las cacerías, determinados como el precio por el número de cacerías), por lo que la cifra global resulta ser de 8.319.162.407 pesetas.

Si, al valor de la carne de caza estimado por las Delegaciones de Agricultura y Medio Ambiente de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (1997), 2.764.738.000 pesetas, se le suma el valor estimado de los puestos de las cacerías, la cifra total sería de 14.066.107.397 pesetas, lo cual vendría a representar un incremento del 3,5% de la Producción Final Agraria regional (9,3% del subsector ganadero regional para dicho año). Si a las cifras correspondientes por importe por puestos de cacerías (gastos de acceso) y valor de la carne de las piezas/reses abatidas, se le suma los gastos del cazador en armería, desplazamientos, hostelería, taxidermia, vestuario, guante y otros (gastos por actividad), licencias, recargos, seguro de responsabilidad civil y permiso de armas (gastos legales), el volumen económico total (entradas al sistema económico-cinegético) que se mueve alrededor de la caza por los anteriores conceptos en Castilla-La Mancha se puede estimar en 24.483.092.248 pesetas.

Por último, teniendo en cuenta los tres sectores clásicos en los que se divide la Economía; sector primario (agrario), sector secundario (industrial) y sector terciario (servicios), se puede estimar que:

- El gasto en el sector agrario es suma del gasto por el valor de la carne de caza (2.764.738.000 pesetas) y del gasto por los puestos de las cacerías (11.301.369.397 pesetas), lo que da como resultado una cifra de 14.066.107.397 pesetas.
- El gasto en los cazadores en el sector industrial se ha tenido en cuenta las variables armería y vestuario en las licencias de clase 1, y sólo vestuario en la licencia clase 2., ascendiendo a 5.426.469.508 pesetas.
- El gasto del cazador en el sector servicios será la suma de los gastos en desplazamiento, guante, hostelería, taxidermia, tasas por expedición de licencias, seguro obligatorio de responsabilidad civil y permiso de armas, en función del tipo de caza practicada por el cazador. El valor total estimado en el sector servicios es el valor suma del gasto de los cazadores de caza menor y mayor y que asciende a 4.990.515.343 pesetas.

4. CONCLUSIONES

El flujo económico total de la actividad cinegética en Castilla-La Mancha en la temporada cinegética 1996-1997, estimado como la suma de gastos legales, de acceso y de actividad de los cazadores en Castilla-La Mancha, es de 21.718.354.248 pesetas. sí, se tiene en cuenta el valor estimado por la administración por el valor de la carne de caza (2.764.738.000 pesetas, en dicha temporada), las entradas al sistema económico-cinegético se pueden estimar en 24.483.092.248 pesetas. Teniendo en cuenta ésta última cifra, las salidas estimadas a los sectores, son: 57,4% al sector agrario, el 22,2% al sector industrial y el 20,4% al sector servicios.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buxadé, C.; Notario, R., (1997): *La actividad cinegética en España: estructura y situación.* En "Zootecnia: Bases de Producción Animal. Tomo XII: Producciones cinegéticas, apícolas y otras". Mundi-Prensa. Madrid. Pág. 15-31.
- Delegaciones de Agricultura y Medio Ambiente de Albacete, Ciudad Real, Cuenca, Guadalajara y Toledo (1997): *Memoria anual 1997.* Documentos internos.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), (1997): *Anuario de Estadística Agraria 1997.* Secretaría General Técnica. Madrid.
- Molina, P., (1989): *Importancia económica de la caza en Castilla-La Mancha.* Consejería de Agricultura. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.
- Otero, C., (1995): *Control de predadores en la gestión integrada de un territorio.* En "Predación, Caza y Vida Silvestre". Fundación La Caixa. Mundi-Prensa. Barcelona. Pág. 151-180.
- SPSS Inc.(1996): *SPSS Categories.* Versión 7.5. Chicago.

ESTIMACIÓN DE LOS *GASTOS POR ACTIVIDAD* DEL CAZADOR EN CASTILLA-LA MANCHA

Bernabéu, R.; Olmeda, M.; Castillo, S.
Instituto de Desarrollo Regional (UCLM)
Campus Universitario s/n, 02071 Albacete

1. INTRODUCCIÓN

Debido a la importancia económica de la actividad cinegética en España, y en Castilla-La Mancha en particular, es de destacar los intentos de cuantificar los ingresos que genera por diversos autores. Teniendo en cuenta que la actividad cinegética se configura como una actividad económica y recreativa para unos y generadora de rentas y empleos para otros, se puede describir como un sistema económico-cinegético (Figura 1).

FIGURA 1. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA ECONÓMICO-CINEGÉTICO



Las entradas al sistema económico-cinegético son debidas al importe de los gastos del cazador y al importe por el valor de la carne de las piezas cobradas. Centrándonos en el importe de los gastos del cazador (y dando por conocido el importe del valor de la carne de caza como su valor de mercado), éstos pueden ser considerados como la suma de los *gastos legales* (licencia de caza, seguro de responsabilidad civil y permiso de armas), *gasto de acceso* (número de monterías y ojeos y su precio) y *gasto por actividad*.

El gasto por actividad del cazador lo conformarían todas aquellas variables que se ocasionan por la caza, como pueden ser gasto en armería, gasto en desplazamiento, gasto en hostelería, gasto en vestuario, etc.

Por otra parte, los gastos legales y los gastos de acceso pueden ser más o menos conocidos no siendo así, normalmente, los gastos por actividad. En este sentido, para valorar bienes sin mercado o bienes con un mercado "oscuro", la economía cuenta con distintos métodos, de entre los cuales destaca el método del coste de viaje (o de desplazamiento). El método del coste de viaje (Hotelling, 1938; 1947) es un método indirecto que se aplica principalmente a la valoración social de un espacio de interés medio ambiental y recreativo concreto, pero que puede ser extensible a otros bienes.

El método ha sido inicialmente aplicado a la recreación por Trice y Wood (1958), Clawson (1959) y Knetsch (1963). Desde entonces, el método de coste de viaje ha sido empleado extensamente y ha sido aplicado a muchos aspectos de la recreación. Sin embargo, el uso del método de coste de viaje para estimar el valor económico de la caza ha sido un fenómeno relativamente reciente. Loomis *et al.* (1985) determinaron el valor económico neto del cazador de distintas especies de caza en Idaho; Sorg *et al.* (1985) midieron el valor económico neto de la pesca en aguas frías y calientes en Idaho; Sorg y Nelson (1986) estimaron el valor de la caza del alce en Idaho; Donnelly y Nelson (1986) estimaron el valor económico neto de la caza del ciervo en Idaho. Hotvedt y Luzar (1989) estimaron el valor económico neto de la caza del ciervo en el área de gestión de la fauna salvaje en Lousiana.

El presente trabajo tiene como objetivo de buscar unas ecuaciones que al mismo tiempo que simplifiquen la toma de datos, sean lo más precisas posibles y puedan sugerir el empleo del método de coste de viaje como una manera para intentar cuantificar los gastos por actividad del cazador.

2. METODOLOGÍA

El trabajo se realizó a través de encuestas a cazadores de la provincia de Ciudad Real, considerándose como variables relevantes del gasto por actividad del cazador, los gastos en: armería, desplazamiento, guante, hostelería, vestuario, taxidermia y otros (cuota de coto, de la asociación de cazadores, etc.). El muestreo, para un nivel de confianza del 95,5% (k=2), en una población finita, para no incurrir en un error superior al 6%, se realizaron 267 encuestas a cazadores con licencia de la provincia de Ciudad Real y el trabajo de campo se desarrolló durante los dos primeros meses de 1997.

Los cazadores, en función del tipo de caza practicada (menor o mayor), se agruparon en segmentos. Dentro de los cazadores que practicaban un determinado tipo de caza, se clasificaron a su vez en función de que la caza que practicaban la realizaban o no en exclusividad. Esta división permitió clasificar al cazador y determinar el gasto en armería, desplazamiento, hostelería, taxidermia, vestuario, guante y otros en los que incurre el cazador, en función del tipo de caza practicada (Bernabéu, 2000) (Cuadro 1).

CUADRO 1
GASTOS MEDIOS DEL CAZADOR POR TIPO DE CAZA

CAZADOR DE CAZA MENOR EXCLUSIVO							
	GASTOS MEDIOS (pta.)						TOTAL (pta.)
	Armería	Vestuario	Desplaza-miento	Hostelería	Guante	Otros	
CAZADOR CAZA MENOR	26.235	3.711	3.677	2.343	186	4.990	41.142

CAZADOR DE CAZA MENOR NO EXCLUSIVO								
	GASTOS MEDIOS (pta.)							TOTAL (pta.)
	Armería	Vestuario	Desplaza-miento	Hostelería	Taxidermia	Guante	Otros	
CAZADOR CAZA MENOR	25.231	9.615	17.154	4.077	7.692	885	2.308	66.962

CAZADOR DE CAZA MAYOR EXCLUSIVO							
	GASTOS MEDIOS (pta.)						TOTAL (pta.)
	Armería	Vestuario	Desplaza-miento	Hostelería	Taxidermia	Guante	
CAZADOR CAZA MAYOR	13.810	8.619	16.667	3.143	14.380	2.524	59.143

CAZADOR DE CAZA MAYOR NO EXCLUSIVO							
	GASTOS MEDIOS (pta.)						TOTAL (pta.)
	Armería	Vestuario	Desplaza-miento	Hostelería	Taxidermia	Guante	
CAZADOR CAZA MAYOR	16.763	7.895	16.368	2.316	14.790	2.211	60.343

Para la determinación de las funciones de gasto de los cazadores se utilizará el análisis factorial y el de regresión. Para la extracción del espacio factorial se utilizará el método de componentes principales, con rotación varimax de los factores, tratando de minimizar el número de variables con saturaciones altas en un factor, en el sentido de que las variables fuertemente correladas entre sí presentan saturaciones altas (en valor absoluto) sobre un mismo factor y bajas sobre el resto. Una vez determinados los factores del análisis factorial, se procederá a determinar la ecuación de regresión entre la variable dependiente (gasto del cazador) y el/los factor/es, que permita explicar o predecir el valor de la dependiente.

El procesamiento informático de la información se realizó con el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 7.5 (SPSS Inc., 1996).

3. RESULTADOS

3.1. Funciones de gasto de los cazadores de caza menor

3.1.1. Función de gasto de los cazadores de caza menor exclusivos

$$G_1 = 666{,}321 + 1{,}378\ G_a + 1{,}173\ G_d$$

Coef. de determinación corregido	t de Student			F de Snedecor	Durbin-Watson
$R^2_c = 0{,}946$	$t_{cte} = 0{,}479$*	$t_{Ga} = 55{,}090$	$t_{Gd} = 7{,}279$	F = 1.620,231	D = 1,761

NOTA: Los coeficientes de regresión de la t de Student y la F de Snedecor, son significativos (<0,05).
* No significativo. Varianza total explicada: 76,5%
G_a: Gastos en armería (cartuchos); G_d: Gastos de desplazamiento.

3.1.2. Función de gasto de los cazadores de caza menor no exclusivos

$$G_2 = 8.920{,}710 + 1{,}586\ G_d + 1{,}222\ G_a$$

Coef. de determinación corregido	t de Student			F de Snedecor	Durbin-Watson
$R^2_c = 0{,}980$	$t_{cte} = 2{,}886$	$t_{Ga} = 14{,}678$	$t_{Gd} = 22{,}985$	F = 465,274	D = 2,906

NOTA: Los coeficientes de regresión de la t de Student y la F de Snedecor, son significativos (<0,05).
G_d: Gastos de desplazamiento; G_a: Gastos en armería (balas y cartuchos).
Varianza total explicada: 93,8%

3.2. Funciones de gasto de los cazadores de caza mayor

3.2.1. Funciones de gasto de los cazadores de caza mayor exclusivos

$$G_3 = 34.428{,}183 + 1{,}483\ G_d$$

Coef. de determinación corregido	t de Student		F de Snedecor	Durbin-Watson
$R^2_c = 0{,}540$	$t_{cte} = 5{,}793$	$t_{Gd} = 6{,}305$	F = 39,749	D = 2,192

NOTA: Los coeficientes de regresión de la t de Student y la F de Snedecor, son significativos (<0,05).
Varianza total explicada: 52,4%

3.2.2. Funciones de gasto de los cazadores de caza mayor no exclusivos

$$G_4 = 27.833{,}374 + 1{,}986\ G_d$$

Coef. de determinación corregido	t de Student		F de Snedecor	Durbin-Watson
$R^2_c = 0{,}864$	$t_{cte} = 6{,}381$	$t_{Gd} = 12{,}665$	F = 160,407	D = 2,023

NOTA: Los coeficientes de regresión de la t de Student y la F de Snedecor, son significativos (<0,05).
Varianza total explicada: 66,7%

4. CONCLUSIONES

Otra de las posibles utilizaciones del método de coste de viaje es la de descubrir los gastos del cazador que éste ha de hacer frente y son distintos a los de las jornadas de caza y requisitos legales. De los resultados obtenidos, en caza menor la utilización del método estaría acompañada de la pregunta al cazador del gasto en armería y en caza mayor, sería exclusivamente del coste de viaje.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bernabéu, R., (2000): *Evaluación económica de la caza en Castilla-La Mancha. Estrategias de Desarrollo.* Tesis Doctoral. Universidad de Castilla-La Mancha. Albacete.
- Clawson, M. (1959): *Methods of measuring the demand for and value of outdoor recreation.* Resource for the Future, nº 10. Washington D.C. 36 p.
- Donnelly, D.M.; Nelson, L.J. (1986): *Net economic value of deer hunting in Idaho.* USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, Resource Bulletin. RM-13. 27 p.
- Hotelling, H. (1938): *The general welfare in relation to problems of taxation and of railway and utility rates.* Econometrica 6: 242-269.
- Hotelling, H. (1947): *The economics of public recreation.* En: The Prewitt Report. Washington DC: Departement of the Interior.
- Hotvedt, J.E.; Luzar, E.J. (1989): *The economic value of white-tailed deer hunting on the sherburne wildlife management area and the Atchafalaya National Wildlife Refuge.* Lousiana Agricultural Experiment Station, Bulletin nº 820. 26 p.
- Knestch, J.L. (1963): *Outdoor recreation demands and benefits.* Land Economics 39: 387-396.
- Loomis, J.B.; Donnelly, D.M.; Sorg, C.F.; Oldenburg, L. (1985): *The net economic value of hunting unique species in Idaho: bighorn sheep, mountain goat, moose and antelope.* USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, Resource Bulletin. RM-10. 16 p.
- Sorg, C.F.; Loomis, J.B.; Donnelly, D.M.; Peterson, G.L.; Nelson, L.J. (1985): *The net economic value of cold and warm water fishing in Idaho.* USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, Resource Bulletin. RM-11. 26 p.
- Sorg, C.F.; Nelson, L.J. (1986): *Net economic value of elk hunting in Idaho.* USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, Resource Bulletin. RM-12. 21 p.
- SPSS INC.(1996): *SPSS Categories.* Versión 7.5. Chicago.
- Trice, A.H.; Wood, S.E. (1958): *Measurement of recreation benefits.* Land Economics 34: 195-207.

LA CERTIFICACIÓN EN EL SECTOR CÁRNICO: RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS AUDITORIAS DE CALIDAD

E. Gaspar *, M.T. Maza , A.M. Berga ***, M. González******
* Gestor de Sistemas de Aseguramiento de la Calidad. Zaragoza.
** Dto. Agricultura y Economía Agraria. Universidad de Zaragoza.
*** Sección Alimentación AEC. Madrid.
**** A.M. B. Consultans. Madrid.

INTRODUCCIÓN

La Gestión de la Calidad, según los criterios establecidos por las normas internacionales de la serie ISO 9000, está siendo reconocida por el sector alimentario en general y por las empresas cárnicas en particular, como una vía para reducir costes, ganar penetración en los mercados, así como un sistema para garantizar al consumidor un producto y servicio acorde a sus necesidades y expectativas.

En estos Sistemas de Gestión de la Calidad se integra la estructura organizativa, las responsabilidades, procedimientos, procesos y recursos necesarios para gestionar la calidad, siendo desarrollados e implantados por la dirección de la empresa, como un medio para cumplir con sus políticas y objetivos de calidad. Integran un componente de "aseguramiento" (también denominados por ello Sistemas de Aseguramiento de la Calidad), en el sentido de dar seguridad y ofrecer confianza, mediante un conjunto de acciones planificadas y sistemáticas, demostrables si es necesario, para proporcionar la confianza de que la entidad cumplirá los requisitos para la calidad.

Los sistemas se dotan de una herramienta imprescindible, la Auditoría de Calidad: examen metódico e independiente que se realiza para determinar si las actividades y los resultados relativos a la calidad satisfacen las disposiciones previamente establecidas, y para comprobar que estas disposiciones se llevan a cabo eficazmente y son adecuadas para alcanzar los objetivos previstos (ISO 10011-1).

Dada la importancia que presenta la auditoría como elemento de control dentro del Plan Estratégico de la empresa, es objetivo de la presente comunicación describir aquellas no conformidades detectadas en las empresas certificadas del sector cárnico, así como la interpretación que se desprende de las mismas.

METODOLOGIA

La información como es habitual en este tipo de trabajos ha sido obtenida por el procedimiento de encuesta. Se enviaron en junio de 1998 a la totalidad de las empresas cárnicas certificadas en esa fecha (35 empresas), con motivo de un estudio más amplio sobre la gestión de la calidad en la industria agroalimentaria, realizado por A.M.B. Consultans, para la Subdirección General de Industrias Agroalimentarias del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

De las 35 empresas cárnicas, contestaron y remitieron la encuesta doce, de ellas se seleccionaron diez, y se excluyeron dos por motivos de su deficiente cumplimentación en aquellos aspectos objeto de esta comunicación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La totalidad de estas empresas, estaban certificadas por la norma ISO 9002 (no aplicaban el requisito 4.4.- control del diseño), para actividades de sacrificio y faenado de vacuno, porcino y aves, elaboración de embutidos y productos cárnicos, despojos cárnicos, etc.

En la tabla 1 mostramos el número y distribución de las "no conformidades" detectadas en las auditorías de las empresas, antes y después de obtener la Certificación, y posteriormente su representación gráfica.

Tabla 1.- Total de no conformidades detectadas en las diez empresas : pre/ post Certificación

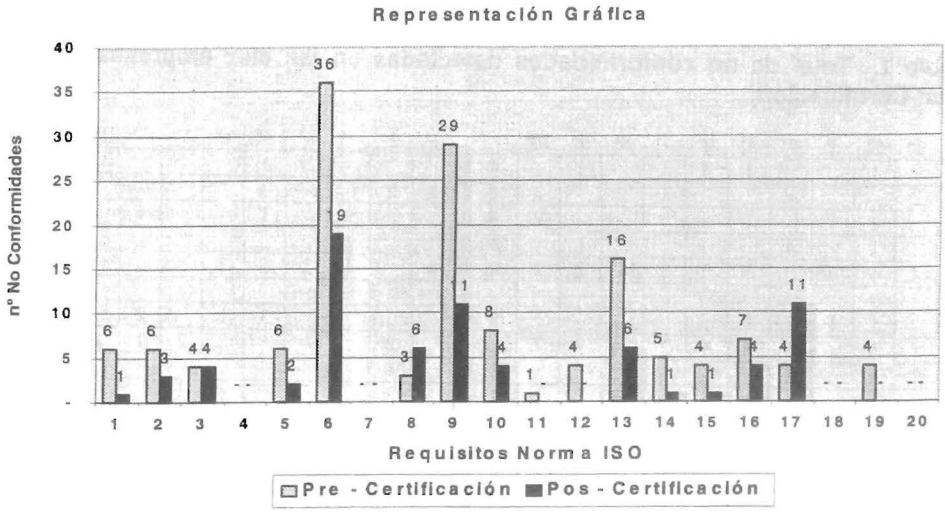
	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª		1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª	8ª	9ª	10ª	
4.1-		1			1	3			1		**6**					1						**1**
4.2-	2						1			3	**6**	1	2									**3**
4.3-		1			1					2	**4**			2		1			1			**4**
4.5-		1		4					1		**6**	1									1	**2**
4.6-	4	6	7		3	5	2	5	2	2	**36**	1		4	2	5	3		3		1	**19**
4.7-											**-**											**-**
4.8-		1	1		1						**3**					3	1		2			**6**
4.9-		6		1	1	4	3		7	7	**29**		2				2	2	1	1	3	**11**
4.10-	2	3		2			1				**8**		1								3	**4**
4.11-		1									**1**											**-**
4.12-							1		1	2	**4**											**-**
4.13-		4	3	2	3			2		2	**16**		2	2		2						**6**
4.14-		1				1	1			2	**5**		1									**1**
4.15-		1		1		1	1				**4**					1						**1**
4.16-				1	4					2	**7**								4			**4**
4.17-		1		3							**4**		1	2		1	4		1	1	1	**11**
4.18-											**-**											**-**
4.19-					4						**4**											**-**
4.20-											**-**											**-**
T.	8	27	11	14	18	14	10	7	12	22	**143**	3	9	10	2	14	10	2	12	2	9	**73**

Requisitos del Sistema de Calidad ISO 9002 (1994): **4.1**-Responsabilidad de la Dirección **4.2**-Sistema de la calidad **4.3**-Revisión del contrato **4.5**-Control de la documentación y de los datos **4.6**-Compras **4.7**-Control de los productos suministrados por el cliente **4.8**-Identificación y trazabilidad de los productos **4.9**-Control de los procesos **4.10**-Inspección y ensayo **4.11**-Control de los equipos de inspección, medición y ensayo **4.12**-Estado de la inspección y ensayo **4.13**-Control de productos no conformes **4.14**-Acciones correctoras y preventivas **4.15**-Manipulación, almacenamiento, embalaje, conservación y entrega **4.16**-Control de los registros de calidad **4.17**-Auditorias internas de la calidad **4.18**-Formación **4.19**-Servicio posventa **4.20**-Técnicas estadísticas.

Previamente a la obtención de la certificación, se detectaron un total de 143 no conformidades que se redujeron a 73 tras la misma, obteniéndose por tanto una reducción del 49%.

En ambas fases hay dos apartados importantes de la norma en cuanto al número de no conformidades detectadas, se trata de compras (4.6) y control de los procesos (4.9), que suponen el 45% de las no conformidades en la fase de pre-certificación y el 41% en la post-certificación. Su reducción es importante (54%) tras la certificación, superior a la observada para el conjunto de los apartados de la norma (49%) como hemos mencionado anteriormente, lo cual nos hace concluir la utilidad que para las empresas cárnicas estudiadas supone la certificación al ir

acompañada de mejoras en general y en particular en aquellos apartados cuyo cumplimiento resulta más problemático. El hecho de que se observe un gran número de no conformidades en el apartado de compras puede deberse a la fijación en ocasiones de unos requisitos de calidad que luego resultan díficiles de cumplir por los proveedores que suministran la materia prima. Las dificultades aparecidas en el control de los procesos es probablemente una característica diferencial de las



empresas cárnicas con respecto a otras industrias alimentarias por tener unos procesos de fabricación en general menos estandarizados y más artesanales.

Destacamos también la importante reducción de fallos que tras la certificación se produce en el apartado 4.13 de la norma que se refiere al control de los productos no conformes. Ello puede indicar que estas empresas están en las primeras fases de la puesta en marcha de su Plan de Mejora cuando tienen una mayor importancia las no conformidades y por tanto los costes derivados de los fallos frente a los costes de prevención y evaluación. A medida que se avanza en el tiempo los costes debidos a fallos disminuyen si el plan está siendo efectivo, y en contrapartida se incrementan los costes de prevención y evaluación de productos no conformes.

Por último observamos tras la certificación un aumento de las no conformidades, ligero en el apartado 4.8 Identificación y trazabilidad de los productos, y más importante en el 4.17 Auditorías internas de la calidad. Este último es lógico si pensamos que en este apartado se recogen los registros de los resultados de la auditoría, así como la puesta en conocimiento al personal de las actividades y el seguimiento de las auditorías para registrar y verificar la eficacia de las acciones correctoras tomadas, lo cual sólo puede suceder tras haber pasado la auditoría correspondiente y haberse certificado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AENOR (1998): Gestión de la calidad en la industria alimentaria. Madrid.

M.A.P.A. (1999). Gestión de la calidad en la industria agroalimentaria. Publicación del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.

ANÁLISIS DE LA NOTORIEDAD EN QUESOS

Mesías, F.J.; Rodríguez de Ledesma, A.; Escribano, M.; Pulido, I
Escuela de Ingenierías Agrarias - Universidad de Extremadura
Carretera de Cáceres, s/n ; 06071 - BADAJOZ

I.- INTRODUCCIÓN

La notoriedad puede entenderse como la cualidad que presenta una marca que es recordada o reconocida por el consumidor, siendo el reflejo de la presencia de la marca en la mente del consumidor (BAÑEGIL,1999). El concepto de notoriedad tiene diversas dimensiones y medidas. Es de destacar la aportación de ALBA y HUTCHINSON (1987), quienes consideran el concepto de familiaridad de marca, que definen como el nivel de experiencia con el producto acumulado por el consumidor a través del uso o de la exposición a la publicidad.

Suelen distinguirse tres niveles o tipos de notoriedad representando diferentes aspectos del concepto (BAÑEGIL,1999), y cuyo significado es el siguiente:

- Notoriedad sugerida: cualidad de una marca para ser identificada (reconocida) por el consumidor entre un conjunto de marcas de una categoría de productos. Se mide por el porcentaje de consumidores potenciales que reconocen la marca.
- Notoriedad espontánea: cualidad de una marca para ser recordada por el consumidor como representante de una cierta categoría de productos. Su medida es el porcentaje de consumidores potenciales que mencionan o recuerdan dicha marca.
- Notoriedad "top of mind": es la cualidad de una marca cuando es recordada en primer lugar por el consumidor como representante de una categoría de productos. Se mide como el porcentaje de consumidores potenciales que recuerdan dicha marca en primer lugar.

El conjunto de estas medidas o dimensiones proporcionan un indicador de la *notoriedad* de una marca. Este aspecto es de gran interés para las industrias, pues la notoriedad o reconocimiento debe ser considerada como base sobre la que se asientan el resto de características que se desea que el consumidor asocie con dicha marca, es decir, como el soporte de la imagen de marca.

II.- MATERIAL Y MÉTODO

La metodología aplicada y la fuente de los datos utilizados proceden del Proyecto de Investigación "La comercialización de los quesos en Extremadura" financiado por el Programa Sectorial I+D del MAPA. En él se llevó a cabo una encuesta a consumidores extremeños de queso, con varias preguntas a partir de las cuales se ha realizado el análisis de notoriedad.

La encuesta se efectuó a una muestra de 1.000 consumidores, elegidos aleatoriamente por toda la geografía extremeña entre octubre de 1996 y marzo de 1997. El número de encuestas a realizar se determinó proporcionalmente a la población, según datos del censo del Instituto Nacional de Estadística (INE, 1994, 1995). Las encuestas válidas fueron finalmente 810, que supone un porcentaje de error del 3,5% con una probabilidad inferencial del 95,5%, considerado adecuado para este tipo de estudios.

En el diseño del cuestionario se consideró de gran importancia incluir preguntas que permitieran obtener una imagen de cómo las marcas de queso que se estudiaban eran recordadas o reconocidas por el consumidor. Este estudio, conocido como análisis de la notoriedad de las marcas se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por BAÑEGIL (1999). Las preguntas de la encuesta que se utilizaron para este análisis fueron las siguientes:

- "¿Conoce las marcas de queso que se presentan (se entregaba una tarjeta

con 11 marcas de quesos impresas)? " (notoriedad sugerida)
- "¿Puede indicar cuál es la marca de queso que más conoce y la segunda que más conoce? " (notoriedad espontánea y top of mind)

III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra los niveles de notoriedad de las 11 marcas utilizadas en el análisis. Una de las primeras conclusione s que pueden obtenerse es la diferenciación entre marcas nacionales y extremeñas en cuanto a nivel de conocimiento. Una marca nacional y una extremeña son las más conocidas con niveles en torno al 60 % de notoriedad sugerida.

Tabla 1.- Notoriedad sugerida, espontánea y top of mind (%)

	Notoriedad sugerida	Notoriedad espontánea	Notoriedad top of mind
El Cigarral	60,34	21,96	10,69
Quesos del Casar	59,6	28,89	13,56
Burgo de Arias	55,17	13,51	4,43
La Cabaña	47,66	7,59	3,52
Garcia-Baquero	38,67	9,41	4,56
Monteoro	32,14	14,84	8,74
Flor de Esgueva	23,52	8,82	5,22
Guadiala	21,67	6,47	2,87
La Cabra del Berrocal	9,97	1,67	1,04
Campo Vera	7,14	0,68	0,52
Rivendel	2,96	0,7	0,39

En relación a la notoriedad espontánea, las marcas extremeñas aparecen mejor situadas, ya que de las tres primeras, dos son extremeñas. En la notoriedad top of mind vuelve a repetirse la misma situación.

Agrupando por categorías, se obtienen los valores medios que aparecen en la tabla 2.

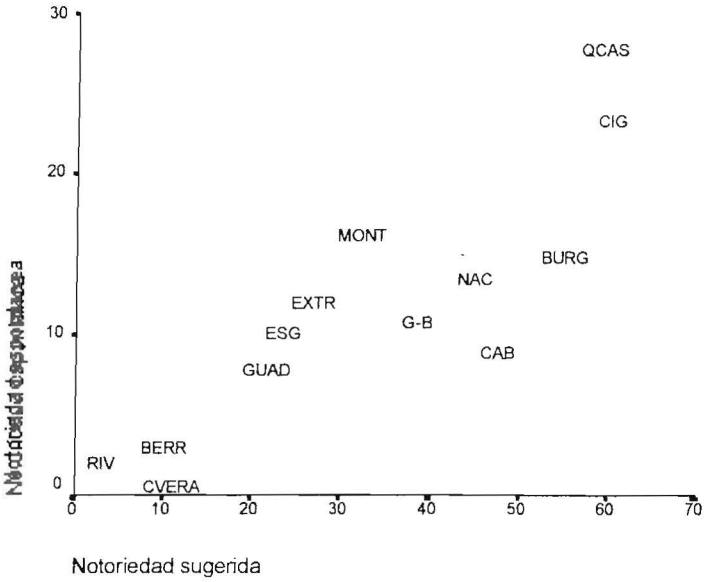
Tabla 2.- Notoriedad agrupada (%)

	Notoriedad sugerida	Notoriedad espontánea	Notoriedad top of mind
Marcas nacionales	45,07	12,26	5,68
Marcas extremeñas	26,70	10,65	5,42

Es destacable que, aunque en la notoriedad sugerida las marcas nacionales casi doblan a las extremeñas, en la notoriedad espontánea y en la notoriedad top of mind estos porcentajes prácticamente se igualan. Esto es debido fundamentalmente a la influencia de la publicidad, mucho más importante en las marcas de ámbito nacional que en las regionales. Por eso, en la notoriedad sugerida, al enfrentarse el encuestado a marcas nacionales y regionales juntas, se inclina más por las primeras, mientras que en la notoriedad espontánea y en la top of mind aparece una imagen más "descontaminada " de la posición relativa.

El gráfico 1 muestra la dispersión de las marcas en función de su notoriedad sugerida (eje de abcisas) y espontánea (eje de ordenadas).

Gráfico 1.- Posicionamiento de marcas según notoriedad



Los códigos empleados en el gráfico anterior se corresponden con las siguientes marcas:

- MONT: Monteoro
- CIG: El Cigarral
- GUAD: Guadiala
- CAB: La Cabaña
- RIV: Rivendel
- G-B: García-Baquero
- EXTR: Media extremeña
- BERR: La Cabra del Berrocal
- ESG: Flor de Esgueva
- CVERA: Campo Vera
- BURG: Burgo de Arias
- QCAS: Quesos del Casar
- NAC: Media nacional

Es clara la deficiente posición de los quesos extremeños con relación al conjunto del estudio. Buena parte de las marcas tiene deficientes niveles de conocimiento y recuerdo y el resto son poco conocidas, aunque relativamente bien recordadas. Esto implica la necesidad de realizar campañas publicitarias que mejoren su conocimiento y además, garantizar su presencia en las grandes áreas de venta, como forma de mantener dicho conocimiento y de mejorar el recuerdo.

Las marcas de quesos extremeños tienen aún un camino muy largo por delante para darse a conocer a los consumidores pues, a excepción de dos marcas, el resto son conocidas y recordadas por muy pocos consumidores.

IV.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBA, J.W.; HUTCHINSON, J.W. (1987). "Dimensions of consumer expertise". Journal of Consumer Research, 13, pp. 411-453.

BAÑEGIL, T. (1999). "Análisis de la industria agroalimentaria extremeña a través de la imagen y posicionamiento de sus marcas". Sin publicar.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA(1995). Rectificación del padrón municipal de habitantes de la provincia de Badajoz. INE. Madrid.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA(1994). Rectificación del padrón municipal de habitantes de la provincia de Cáceres. INE. Madrid.

DIFERENCIAS EN LAS PREFERENCIAS DE LOS CONSUMIDORES DE DISTINTOS TIPOS DE CORDERO Y TERNERA CON DISTINTIVOS DE CALIDAD

Mercedes Sánchez, Ana Sanjúan, Georges Akl
Universidad Pública de Navarra. Dpto. Gestión de Empresas
Campus de Arrosadía, 31006 Pamplona. email:mersan@si.unavarra.es

INTRODUCCIÓN

En la actualidad el consumo alimentario de los países desarrollados se está caracterizando por incluir entre sus principales preocupaciones, la seguridad alimentaria, entendida como la preocupación de los consumidores por la influencia que su alimentación tenga sobre su salud. Entre los indicadores que existen para detectar que el fenómeno anterior se está produciendo destaca el incremento de la demanda de productos alimentarios de superior calidad y, de forma particular, en actuaciones importantes en algunos sectores productivos de carne fresca, ya que han sido uno de los primeros productos que ha presentado problemas de salubridad (vacuno, pollo, etc.). Los subsectores productores implicados e, incluso los distribuidores finales, han reaccionado de diversas formas y, entre ellas, cabe destacar la presencia en los productos de diferentes distintivos de calidad, o etiquetas, que responden a distintas formas de diferenciación de los productos (IGP, Programa C.L.A.R.A., Labels de Calidad, etc.) (García, 1998, Beriain, 1998, Sueiro, 1997, Sierra, 1986). Los consumidores reaccionan ante este fenómeno de distinta forma según sus preferencias, en el sentido de que para algunos segmentos este atributo diferenciador será relevante en su decisión de compra, pero para otros grupos de consumidores otros atributos del alimento serán más importantes. Este va a ser el objetivo del trabajo, analizar las diferencias en la estructura de preferencias de los adquirentes de dos tipos de carne fresca, cordero y ternera, con y sin distintivos de calidad.

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La principal fuente de información empleada han sido sendas entrevistas personales dirigidas a muestras representativas de compradores habituales de alimentos para su consumo en el hogar, residentes en dos ciudades del norte de España (Pamplona y San Sebastián), consumidoras en una proporción elevada de los dos tipos de carne fresca analizadas en el estudio[1]. En cuanto a las diferencias entre los consumidores y no consumidores de cordero y ternera con y sin distintivos de calidad se puede destacar en el cordero, en el que se distinguieron dos grupos (*cordero sin etiqueta y Label Vasco*), una adquisición elevada de cordero etiquetado (38% de la muestra), con mayor nivel renta entre los compradores (23% de éstos tienen una renta mensual superior a 350.000 ptas. frente al 15% de los no adquirentes), y unos estilos de vida más metódicos, mayor preocupación por la salud y dinamismo[2]. En ternera se tuvieron cinco grupos, cuatro compradores de producto etiquetado: *Ternera de Navarra, Ternera Gallega, Ternera Label Vasco y Ternera de Programa C.L.A.R.A.* y los adquirentes de *ternera sin distintivo de calidad*. La mayor frecuencia de consumo se da en T. de Navarra, T. Gallega y ternera sin etiqueta (el consumo

[1] La encuesta fue realizada entre abril y mayo de 1999 sobre muestras doblemente estratificadas por distrito y edad. Se realizaron 128 encuestas de cada producto en cada ciudad. El error máximo cometido asciende al 5% en el cordero (p=0.91) y del 4,8% en ternera (p=0.92) para un nivel de confianza del 95% (k=2). Los autores desean agradecer a Maite Fuente y a Jorge Bernués el apoyo prestado en la realización de las encuestas.

[2] Los estilos de vida representan en ambos tipos de carne los factores obtenidos mediante sendos Análisis Factoriales de Componentes Principales sobre una escala original formada por siete ítems; para mayor detalle consúltese Sánchez et al., 2000. Otras características sociodemográficas de los compradores (edad, tamaño de la familia, lugar de compra) no han ofrecido diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados. Por lo tanto, los aspectos que son comentados en el texto si ofrecen diferencias significativas para un error máximo del 10%.

una vez a la semana del producto es del 58%, 40% y 58% respectivamente), con renta superior a la media en T. de Navarra, y T. Gallega (23% y 60% respectivamente tienen una renta familiar mensual superior a 350.000 ptas). Los estilos de vida más metódicos y más sensibilizados con la relación entre salud y alimentación se dan entre los adquirentes de T. de Navarra y Gallega y los menos involucrados son los compradores de producto indiferenciado.

En segundo lugar se analizaron los valores otorgados por los grupos de compradores definidos en cada producto a 10 aspectos relevantes en la compra (color, confianza en el carnicero, raza, origen, precio, sabor, control higiénico de la carnicería, grasa, terneza y etiqueta)[3]. En cordero destacan las diferencias en: la confianza en el carnicero, la raza, el sabor y la terneza, que se consideran más importantes para los adquirentes de cordero etiquetado. En ternera los compradores de la T. Navarra y la T. Gallega otorgan puntuaciones similares a los aspectos, seguidos de los compradores de Label Vasco. Los compradores de las carnes con etiqueta regional valoran más el color, la confianza en el carnicero, la raza, el precio, el sabor, el control higiénico de la carnicería, la grasa, la terneza y la etiqueta, frente a los adquirentes de carne sin etiqueta. Destaca como las puntuaciones más elevadas las ofrecen los compradores de T. Gallega.

En base a la información anterior se ha avanzado hacia una tercera etapa en el análisis de las diferencias consistente en el empleo de la metodología del análisis conjunto que permite establecer la estructura de preferencias de cada grupo de consumidores en la compra de los productos, en función de los atributos relevantes en la decisión de adquisición definidos previamente. De acuerdo con los resultados obtenidos en la fase anterior y con la revisión bibliográfica (Bester y Schroeder (1995), Henneberry et al. (1999), Henson y Northen (2000), Teague y Anderson (1995), Verbeke (2000) entre otros), los atributos y niveles considerados fueron: *precio* (reducido, medio, elevado[4]), *origen geográfico del producto* (regional, nacional, importado), *etiqueta de calidad* (sin etiqueta, con etiqueta regional, otras etiquetas de calidad) y *características organolépticas* (color, terneza, grasa). Estos atributos y sus niveles se han combinado para formar un conjunto de carnes hipotéticas que han sido puntuadas por los encuestados. De las posibles combinaciones que se pueden obtener se ha seleccionado la alternativa ortogonal de ocho productos hipotéticos. Los evaluadores deben asignar valores entre 0 y 10 de acuerdo a su nivel de preferencia, 0 al menos preferido, 10 al más preferido y cualquier valor entre 0 y 10 al resto de productos según la ordenación de sus preferencias. La especificación del modelo conjunto considerándolo aditivo sería (Steenkamp, 1987):

$$\text{Valoración} = \beta_0 + \beta_1 * Precio + \beta_2 * Reg + \beta_3 * Nac + \beta_4 Noetiq + \beta_5 * Etireg + \beta_6 * Color + \beta_7 * Tern + u \quad [5]$$

En el Cuadro 1 se recogen las utilidades asignadas por los distintos segmentos a cada uno de los atributos y la importancia relativa otorgada a éstos. En cordero destaca la utilidad negativa de los precios para todos los consumidores, la preferencia por producto regional y por etiquetas regionales sobre otras, especialmente en compradores de Label Vasco, no siendo el color un aspecto valorado en relación a las demás características. En ternera los adquirentes de T. Navarra y Programa C.L.A.R.A. otorgan utilidades positivas al precio, pudiendo

[3] Los aspectos han sido puntuados en su orden de importancia para el comprador en una escala de 1 a 5, representando el 5 el máximo nivel de importancia.

[4] Debido a que existen diferencias en los precios de los dos productos los niveles elegidos en el caso del cordero fueron para un kg. de chuletas: 1.600, 1.900 y 2.200 ptas. y para un kg. de filetes de ternera de primera: 1.300, 1.500 y 1.700 ptas.

[5] Para más detalle sobre el modelo conjunto empleado consultar Sánchez et al., 2000.

asimilarse a un indicador de calidad; el resto optan por la utilidad negativa. El origen regional y nacional es valorado de forma positiva por todos los compradores, así como la presencia de etiqueta regional o nacional, con mayor utilidad para las regionales. Las características ofrecen utilidades diferentes según el tipo de carne.

Finalmente el tercer tipo de información relevante del análisis conjunto es la importancia relativa que cada atributo tiene en la estructura de preferencias. Destaca en cordero la importancia del origen y la menor relevancia del precio entre los compradores de producto etiquetado frente a los no consumidores. En ternera la presencia de distintivos de calidad es lo más importante para los compradores de T. Navarra, T. Gallega y T. Label Vasco, mientras el precio es el atributo más relevante para los adquirentes de producto sin etiqueta.

Cuadro 1. Utilidades de los niveles e importancia relativa de los atributos en la compra de cordero y ternera con y sin distintivos de calidad

	Cordero		Ternera				
	L. Vasco	Sin etiq.	Navarra	Gallega	L. Vasco	CLARA	Sin etiq.
Precio	*13%**	*21%*	*16%*	*12%*	*20%*	*29%*	*32%*
	-0.004	-0.001	0.0006	-0.002	-0.003	0.0004	-0.003
Reducido	-0.67	-1.65	0.77	-2.38	-3.62	0.54	-3.39
Medio	-0.79	-1.96	0.89	-2.75	-4.18	0.63	-3.91
Alto	-0.92	-2.27	1.01	-3.12	-4.73	0.71	-4.43
Origen	*43%*	*35%*	*30%*	*30%*	*28%*	*28%*	*25%*
Región	1.48	1.02	0.66	1.47	0.76	0.71	0.28
Nación	0.34	0.36	0.34	0.15	0.11	0.07	0.14
Importado	-1.82	-1.38	-1.00	-1.62	-0.86	-0.78	-0.42
Etiqueta	*26%*	*24%*	*33%*	*38%*	*33%*	*26%*	*23%*
Sin etiqueta	-0.69	-0.69	-1.20	-1.35	-0.65	-0.97	-0.46
E. Regional	0.73	0.60	1.06	1.24	0.59	0.83	0.65
Otras	-0.04	0.09	0.14	0.11	0.06	0.14	-0.19
Características	*18%*	*20%*	*21%*	*18%*	*19%*	*17%*	*20%*
Color	-0.07	-0.11	-0.17	0.38	0.16	-0.16	-0.19
Terneza	0.007	0.04	0.24	-0.09	-0.07	0.45	0.17
Grasa	0.063	0.07	-0.07	-0.29	-0.09	-0.29	0.02

* Importancia relativa de cada atributo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERIAIN, M.J. (1998). Mundo Ganadero, Septiembre, 32-39.

BESTER, G. and SCHROEDER, T. (1995). *Amer. J. of Agricultural Economics* :969-979.

GARCÍA, D.; ROUCO, A. (1998).(Dir. y C..). Fundación Universidad Empresa de Murcia.

HENNEBERRY, S.R., PIEWTHONGNGAM, K. And HAN-QIANG (1999). *J. of Agriculture and Resource Economics* 24: 98-113.

HENSON, S. and NORTHEN, J. (2000). *Journal of Agricultural Economics* 51: 90-105.

SIERRA, I. (1986). ITEA, Producción Animal, 17 (66), 3-12.

SUEIRO, R. (1997Ciencia y tecnología alimentaria, 1 (4), 91-97.

SÁNCHEZ, M.; SANJUAN, A.; AKL, G. (2000). Encuentro de Profesores de Marketing. Santiago de Compostela. Septiembre.

TEAGUE, L and ANDERSON, D. (1995). *Journal of consumer affairs* 29: 108-127.

VERBEKE, W. (2000). *British Food Journal* 102: 522-538.

Nutrición-Alimentación animal

EFECTO DE LA CASTRACION Y EL EXTRUSIONADO DEL CONCENTRADO SOBRE LA INGESTION Y EL CRECIMIENTO DE TERNEROS FRISONES EN CEBO INTENSIVO

Solanas, E.[1], Castrillo, C.[1], Janacua, H.[1], Enguita, M.[1], Guada, J.A.[1],Serrano, X.[2]
[1]Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. [2]Cooperativa Técnica Agropecuaria, SCCL, Bellpuig.

INTRODUCCIÓN

La extrusión es un proceso basado en la aplicación de presión, que permite modificar la estructura y textura de los alimentos (Cheftel, 1.986). En monogástricos resulta en un incremento de la digestibilidad del almidón, de la solubilidad de la fibra y de la disponibilidad de la proteína (Angulo et al., 1.998). En rumiantes las ventajas son menos claras, debido al elevado potencial enzimático de la flora ruminal, pero se han observado mejoras del índice de transformación, sobre todo en terneros jóvenes (Serrano, 1.995). Por otra parte, la castración de los terneros puede tener repercusiones positivas sobre la calidad de la carne (Dudouet, 1.999), aspecto cada vez de mayor importancia en el mercado, aunque también tiene generalmente un efecto negativo sobre los índices productivos, consecuencias ambas que necesitan ser evaluadas. Con este fin se desarrolló un experimento en el que se estudió el efecto de la extrusión del pienso, la castración y el peso de sacrificio sobre los rendimientos productivos y la calidad de la canal y de la carne de terneros frisones. En este trabajo se presentan los resultados de producción obtenidos desde los 90 hasta los 250 Kg de peso vivo (primer peso de sacrificio). Los resultados sobre la calidad de la carne se presentan en el trabajo de Martínez-Cerezo et al.(2.001).

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 56 terneros de raza Frisona, la mitad machos enteros y la otra mitad machos castrados, con un peso vivo medio al inicio del experimento de 90,9 $\pm$ 1,29 kg, que permanecieron en boxes individuales durante todo el periodo experimental, que duró 106 días, tras los cuales, parte de ellos fueron sacrificados. Los animales recibieron pienso concentrado, en forma de harina, y paja de cebada, ambos "ad libitum", en dos distribuciones diarias (a las 8:30 y 18:30 horas). La mitad de los terneros recibieron el pienso extrusionado y la otra mitad sin extrusionar. En la tabla 1 (a y b), figura la fórmula del pienso (común para ambas presentaciones) y su composición química. Durante los primeros 7 días se hizo una adaptación a la dieta, previa a la fase experimental.

Diariamente se registró la oferta de pienso y paja y se recogieron los residuos de ambos. Semanalmente se determinó la materia seca de la oferta y residuos para el cálculo de la materia seca ingerida de concentrado (MSIc), de paja (MSIp) y total (MSIt). Los animales fueron pesados semanalmente tres horas después de la primera distribución de la comida, determinándose por regresión cuadrática y extrapolación al día 0 y 106, el peso vivo inicial (PVI), final (PVF) y la ganacia media diaria de peso (GMD). El estudio del efecto de la castración de los terneros y el extrusionado del pienso sobre los distintos parámetros se llevó a cabo mediante análisis de varianza factorial (2 sexos x 2 piensos x 14 animales), mediante el procedimiento GLM (SAS 1.988).

Tabla 1.a. Composición bromatológica del pienso

* Ingredientes del pienso	%
- Maíz	35
- Cebada	20,8
- Altramuces	12
- Tercerillas	8
- Soja 44	7,9
- Gluten Feed	10
- Grasa	3,1
- Carbonato cálcico	1,7
- Bicarbonato sódico	0,5
- Sal	0,4
- Maganesita Calcinada	0,2
-Corrector vitamínico mineral	0,4

Tabla 1.b. Composición química del pienso.

* Composición química del pienso	No extrusion. (%)	Extrusionado (%)
- Materia Seca (% de la MF)	90,05	92,13
- Proteína bruta (% de MS)	17,04	17,41
- Grasa Bruta (% de MS)	6,89	6,72
- Fibra bruta (% de MS)	6,37	6,10
- Cenizas (% de MS)	5,59	5,30

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron unas GMD comprendidas entre 1,50 y 1,516 kg/día y unos índices de transformación entre 2,96 y 3,11 kg MSI/kg ganacias de peso, según tratamientos. El consumo medio de materia expresado en porcentaje de peso vivo estuvo comprendido entre 2,6-2,9% al inicio de la fase experimental y 2,3-2,5% al final.

En la tabla 2 se presentan los efectos de la castración y el extrusionado del pienso sobre los distintos índices productivos. En ninguno de los parámetros determinados se puso de manifiesto interacción entre ambos factores a estudio, por lo que en la tabla se presentan las medias correspondientes a los efectos principales. Los machos enteros presentaron un PVF 9,36 kg superior que los castrados, debido a que experimentaron una GMD de 1,564 kg/d, frente a 1,451 kg/d en los castrados ($P<0,01$). No se manifestaron diferencias debidas al sexo de los animales en el consumo de concentrado ni en el de paja, por lo que los enteros presentaron un índice de transformación un 6,8% inferior ($P<0,001$) que los castrados, cuando se consideró sólo la MSI de concentrado (ITc.) y un 6,3% inferior ($P<0,01$) cuando se consideró el total de MSI (ITt.).El extrusionado provocó un menor consumo de materia seca de concentrado ($P<0,01$) y total ($P<0,05$). No hubo diferencias significativas en el consumo de paja cuando éste se expresó en términos absolutos (kg/d), aunque expresado en porcentaje del total de MSI fue ligeramente superior ($P<0,05$) en los animales que consumieron extrusionado (11,45% vs. 10,23%). No se manifestaron diferencias significativas en las GMD entre los terneros alimentados con uno u otro pienso, por lo que los animales que recibieron el pienso extrusionado presentaron un ITc e ITt un 6,1% ($P<0,01$) y un 4.9% ($P<0.05$) inferior.

Tabla 2. Efecto de la castración y el extrusionado del pienso sobre los índices productivos

	Enteros	Castrad.	Extrus.	No extru.	S.E.M	Sexo	Trat.
PVI (kg)	89,68	92,23	91,09	90,83	1,859	ns	ns
PVF(kg)	254,49	245,13	248,06	251,55	3,200	*	ns
GMD (kg)	1,56	1,45	1,50	1,52	0,021	***	ns
MSIc/día (kg/d)	4,09	4,07	3,93	4,22	0,070	ns	**
MSIp/día (kg/d)	0,51	0,48	0,51	0,48	0,020	ns	ns
MSIt/día (kg/d)	4,59	4,55	4,44	4,70	0,074	ns	*
MSIp/MSIt (%)	11,10	10,58	11,46	10,23	0,402	ns	*
MSIt (% PV)	2,67	2,70	2,62	2,75	0,026	ns	***
IT c	2,61	2,80	2,62	2,79	0,035	***	**
IT t	2,94	3,14	2,96	3,11	0,040	**	*

En conclusión, la castración de los terneros provoca un incremento en el índice de transformación debido a un descenso en las GMD en peso, mientras que el extrusionado del concentrado supone un descenso del índice de transformación debido fundamentalmente a una menor ingestión de pienso, aunque las diferencias debidas a ambos factores fueron inferiores al 10%. En lo que respecta al extrusionado sería conveniente profundizar sobre el efecto de este proceso sobre ingredientes específicos de la dieta, con el fin de procesar solamente aquellos ingredientes sobre los que mayor beneficio pueda obtenerse desde el punto de vista nutritivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, E., Puchal, F., 1.995. Universidad de Lleida, Universidad Autónoma de Barcelona, 112-128.
- Cheftel, J.C., 1.986. Food Chem. 20, 263-283.
- Dudouet, Ch., 1.999. Editions France Agricole, 49-51.
- Serrano, X., Baucells, M.D., Barroeta, A.C, Puchal, F., 1.998. Animal Feed Science and Technology,70, 274-280.
- S.A.S. Statistical Analysis Systems Institute,1.988. S.A.S User's Guide: Statistics. (version 6.03). SAS Institute, Inc. Cary NC.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Olleta, J.L.,Panea, B., Serrano, X., Castrillo, C., 2.001, ITEA.

*Proyecto financiado por la Cooperativa Técnica Agropecuaria SCCL (Bellpuig), en el marco del proyecto CDTI - TAM 1999-0109.

RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN TERNEROS LECHALES: EFECTO DE UNA RESTRICCIÓN DE LA INGESTIÓN EN LA PRIMERA ETAPA DEL CRECIMIENTO

A.R. Mantecón, J. López, A. Cerdeño, P. Lavín y F.J. Giráldez
Estación Agrícola Experimental, CSIC. Apartado 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

La producción de terneros lechales, que fue tradicional en las zonas de montaña de Castilla y León y prácticamente inexistente en la actualidad, podría ser una alternativa productiva en las explotaciones de ganado vacuno.

Se ha puesto de manifiesto (Ryan, 1990) que una restricción en la ingestión durante el periodo de crecimiento podría dar lugar a cambios en el ritmo de ganancia de peso y rendimientos productivos en etapas posteriores del crecimiento. Sin embargo, esta respuesta varía con la edad del animal a la que tiene lugar la restricción y con la intensidad y duración de esta. Además, la ingestión no restringida en la etapa anterior al sacrificio permitiría un engrasamiento adecuado de las canales.

El objetivo de este trabajo es conocer las diferencias en el rendimiento productivo de terneros lechales, como consecuencia de una restricción en la ingestión en la primera etapa del crecimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 18 terneros de raza Parda, que fueron equitativamente distribuidos en los dos tratamientos experimentales siguientes:

Tratamiento "ad libitum": nivel de ingestión de leche "ad libitum" durante todo el periodo de crecimiento.

Tratamiento "restricción-ad libitum": nivel de ingestión de leche del 70% de "ad libitum" hasta los 75 días de edad y posteriormente "ad libitum" hasta el sacrificio.

Los terneros fueron adquiridos en explotaciones ganaderas de la montaña de León, todas ellas pertenecientes a la Asociación Nacional de la Raza Parda.

Desde el inicio del experimento los terneros fueron alojados, en la Estación Agrícola Experimental del CSIC, en jaulas individuales de 2 x 1 m.

Los terneros recibieron como alimento exclusivamente leche entera de vaca en polvo (97,1% de materia seca, 24,1% de proteína bruta, 25,6% de grasa bruta, 6,0% de cenizas y 5,4 Mcal/kg de materia seca), reconstituida, en cada toma, para contener el 13,7% de materia seca. La leche se ofreció en dos tomas diarias, a las 9 y a las 19 horas, utilizando calderos individuales con tetilla. Se controló la ingestión diaria de cada animal por la medida de la oferta y los restos en cada toma. Los animales cuya ingestión era "ad libitum" recibían una oferta de leche suficiente para permitir un 20% de restos. Los terneros a nivel de ingestión restringido recibían el 70% de la cantidad media ingerida en la semana anterior, expresada en $g/kg^{0,75}$, del grupo de terneros alimentados "ad libitum".

El peso de los terneros se controló semanalmente, utilizando una balanza de 0,2 kg de sensibilidad. El crecimiento medio de los terneros, en cada periodo, se estimó mediante regresión lineal del peso frente a la edad (días de vida).

El momento de sacrificio se estableció, para todos los animales, en los 5 meses de edad, con las desviaciones impuestas por ser llevado a cabo, quincenalmente, en un matadero autorizado.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se pueden observar los valores medios de edad y peso vivo de los terneros, al inicio y final de los dos periodos experimentales, de cada tratamiento experimental. Es de destacar que mientras que al final del periodo 1 (final de la restricción en uno de los tratamientos) se encontraron diferencias significativas ($p>0,01$) en el peso vivo de los animales (15,5% inferior en el grupo restringido que en el alimentado "ad libitum"). A pesar de los 17 kg de diferencia en términos absolutos, no se encontraron diferencias significativas ($p>0,10$) en el peso final de los terneros debido, posiblemente, a la variación individual existente entre animales.

Tabla 1. Pesos vivos (PV) y edades de los terneros para los dos tratamientos experimentales.

	Tratamientos		Nivel de
	"Ad libitum"	"Restringido-Ad libitum"	Significación
Edad inicial (dias)	12,4±1,51	15,7±2,03	ns
PV inicial (kg)	62,6±3,58	69,3±4,87	ns
Edad final periodo 1 (días)	84,6±1,59	88,3±2,01	ns
PV final periodo 1 (kg)	147,4±5,21	124,5±4,30	**
Edad al sacrificio (días)	146,5±5,10	157,0±5,60	ns
Peso al sacrificio (kg)	232,0±9,25	215,4±8,44	ns

**= $p<0,01$, ns= $p>0,10$

En la tabla 2 se presentan los resultados de ingestión diaria de leche, ganancia media diaria e índice de transformación, para los dos periodos y tratamientos experimentales.

Tabla 2. Ingestión diaria de leche (IL), ganancia media diaria (GMD) e índice de transformación (IT) de los dos tratamientos experimentales y periodos.

	Tratamientos		Nivel de
	"Ad libitum"	"Restringido-Ad libitum"	Significación
Periodo 0-75 dias			
IL (kg/ternero)	11,65±0,402	7,93±0,203	***
GMD (kg/ternero)	1,252±0,0550	0,810±0,0159	***
IT (kg leche/kg GMD)	9,34±0,176	9,81±0,275	ns
Periodo 76 días-sacrificio			
IL (kg/ternero)	15,67±0,846	14,03±0,471	+
GMD (kg/ternero)	1,491±0,1060	1,385±0,0392	ns
IT (kg leche/kg GMD)	10,61±0,301	10,14±0,254	ns

***= $p<0,001$, += $p<0,10$, ns= $p>0,10$

Como consecuencia del diseño impuesto, en la primera mitad del periodo de crecimiento estudiado (0-75 días de edad), se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,001$) en la ingestión diaria de leche (IL) (68% el grupo "restringido"

respecto al grupo "ad libitum") y en la ganancia media diaria (GMD) (65% el grupo "restringido" respecto al grupo "ad libitum").
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p>0,10$) en el índice de transformación (IT) (kg de leche consumida/kg de ganancia de peso) entre los dos niveles de ingestión establecidos. Cuando el IT se expresa en términos de materia seca ingerida por unidad de ganancia de peso el valor medio fue de 1,31.
Durante el segundo periodo, en que todos los animales recibieron la leche "ad libitum", la ingestión diaria mostró una tendencia a ser mayor ($p<0,10$) en el grupo que había recibido la leche "ad libitum" en el primer periodo. Las diferencias en la GMD y en el IT no fueron estadísticamente significativas ($p>0,10$) en este segundo periodo.
Con la finalidad de disponer de un mecanismo de predicción de la ingestión de los terneros se realizaron, para cada animal, las regresiones lineales de de la ingestión diaria de leche frente al peso vivo semanal de los terneros, obteniendose las siguientes ecuaciones, que fueron estadísticamente significativas en todos los casos ($p<0,01$, $r^2>0,82$):

Periodo 1:

"Ad libitum"

Ingestión de leche (kg/día) = 3,96±0,368 + 0,079±0,0075 x Peso vivo semanal (kg).

"Restringido-Ad libitum"

Ingestión de leche (kg/día) = 1,99±0,221 + 0,070±0,0042 x Peso vivo semanal (kg).

Periodo 2:

"Ad libitum"

Ingestión de leche (kg/día) = 9,08±0,978 + 0,036±0,0044 x Peso vivo semanal (kg).

"Restringido-Ad libitum"

Ingestión de leche (kg/día) = 5,95±0,288 + 0,050±0,0017 x Peso vivo semanal (kg).

El valor de la pendiente ha de ser interpretado como la cantidad de leche diaria necesaria para lograr un aumento de 1 kg de peso vivo semanal (0,143 kg/día). Este parámetro de eficiencia nutritiva presentó un mayor valor ($p<0,01$) en el primer periodo y durante la segunda etapa fue menor ($p<0,01$) en los terneros que recibieron la leche "ad libitum" durante todo el periodo experimental.
Considerando que no hubo diferencias ni en el peso al sacrificio ni en el índice de transformación, la combinación de un periodo de alimentación restringida seguido de un periodo de alimentación "ad libitum", parece ser una alternativa económicamente más rentable que realizar la alimentación "ad libitum" de manera permanente. Sin embargo, para evaluar la rentabilidad real de estas estrategias sería preciso tener en cuenta otros parámetros, tales como la calidad de la canal y de la carne obtenida.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto INIA SC99-013-C2-2.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ryan, W.J. (1990). Compensatory growth in cattle and sheep. *Nutrition Abstracts and Reviews Series B*, 60, 653-664.

SAS (1989). *SAS/STAT User's Guide Int.* (Version 6, 4th ed.). SAS Institute Inc. Cary. NC.

EFECTO DE UNA RESTRICCIÓN DE LA INGESTIÓN EN LA PRIMERA ETAPA DEL CRECIMIENTO SOBRE LA COMPOSICIÓN CORPORAL (CANAL Y "NO CANAL") DE TERNEROS LECHALES

A.R. Mantecón, J. López, A. Cerdeño, A. Gómez y C. Vieira
Estación Agrícola Experimental, CSIC. Apartado 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

El plantear alternativas nutritivas, como puede ser el efecto del nivel de ingestión de leche en la producción de terneros lechales, obliga a tener en cuenta no sólo los aspectos netamente de producción primaria (ver Mantecón et al., 2001), sino también las características del producto final obtenido y cómo estas pueden verse modificadas por efecto de los tratamientos planteados.

El objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de una restricción en la ingestión de leche durante la primera etapa del crecimiento (0-75 dias de vida), sobre las partes de la fracción "no canal" y de la canal y su despiece.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 18 terneros de raza Parda, que fueron equitativamente distribuidos en los dos tratamientos experimentales siguientes: *Tratamiento "ad libitum"* (nivel de ingestión de leche "ad libitum" durante todo el periodo de crecimiento) y *Tratamiento "restricción-ad libitum"* (nivel de ingestión de leche del 70% de "ad libitum" hasta los 75 dias de edad y posteriormente "ad libitum" hasta el sacrificio).

Los terneros fueron sacrificados cuando alcanzaron los 5 meses de edad, con un peso vivo de 232,0±9,25 kg y 215,4±8,44 kg para los grupos "ad libitum" y "restringido-ad libitum", respectivamente. En el matadero se tomaron el peso de la canal caliente y fría, tras 24 horas de oreo, además de los datos de conformación de la canal de acuerdo con el sistema EUROP y la valoración subjetiva del estado de engrasamiento en una escala de 1 a 5. En la fracción "no canal" se tomaron los pesos de: piel, patas, cabeza, bazo, genital, riñones, hígado, pulmones, corazón, grasa omental, grasa mesentérica, grasa pelvico-renal y aparato digestivo lleno y vacío. Para estudiar la morfología se tomaron las siguientes medidas en la canal fría: longitud de la canal, longitud de la pierna, perímetro de la pierna, profundidad del pecho, profundidad del flanco, diámetro de la pierna y espesor de la grasa dorsal (6ª vértebra torácica). En este mismo momento se realizó el despiece de la media canal izquierda, recogiendo el peso de las siguientes partes: solomillo, lomo, aguja, babilla, cadera, contra (incluido redondo), tapa, brazuelo, morcillo delantero y trasero, falda, pecho, huesos y sebos más restos.

Para el análisis estadístico de los resultados se utilizó el paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores de los constituyentes de la fracción "no canal". De las partes consideradas es de destacar que la suma del hígado más pulmón más corazón presentó un valor significativamente mayor ($p<0,01$) en los animales mantenidos "ad libitum" durante todo el periodo experimental. Esta diferencia es debida al hígado y corazón ya que en el pulmón las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas ($p>0,10$). La tendencia ($p<0,10$) encontrada entre tratamientos en el peso del contenido digestivo hace que si bien las diferencias en el peso vivo de los terneros en el momento del sacrificio no fueron estadísticamente

significativas (p>0,10), sí lo son cuando se considera el peso vivo vacío de los animales (216,1±9,01 kg y 194,2±6,63 kg para los grupos "ad libitum" y "restringido-ad libitum", respectivamente). Los valores del peso total de los depósitos de grasa interna fueron mayores en el grupo "ad libitum" (p<0,10; 7,34±0,827 kg vs 5,93±0,529 kg), si bien las diferencias encontradas fueron significativas para la grasa omental (p<0,05), mostraron una tendencia (p<0,10) en la grasa pélvico-renal y no fueron estadísticamente significativas (p>0,10) en la grasa mesentérica. Cuando el peso de las partes de la "no canal" se expresan en función del peso vivo vacío, las diferencias entre tratamientos no fueron significativas (p>0,10) en ningún caso.

Tabla 1. Peso de las partes de la fracción "no canal" de los dos tratamientos experimentales.

	Tratamientos		Nivel de
	"Ad libitum"	"Restringido-Ad libitum"	Significación
Piel+Patas+Cabeza (kg)	38,9±1,79	36,1±1,50	ns
Bazo+Genital+Riñones (kg)	1,83±0,081	1,67±0,120	ns
Hígado+Pulmón+Corazón (kg)	7,98±0,155	7,10±0,226	**
Digestivo vacío (kg)	9,27±0,548	9,58±0,565	ns
Contenido digestivo (kg)	15,9±2,41	21,2±3,01	+
Grasa pélvico-renal (kg)	2,64±0,231	2,08±0,166	+
Grasa omental (kg)	2,94±0,466	2,16±0,207	*
Grasa mesentérica (kg)	3,08±0,253	2,72±0,267	ns

**= p<0,01, *=p<0,05, += p<0,10, ns= p>0,10

En la tabla 2 se pueden observar los valores medios, para cada tratamiento experimental, del peso, rendimiento, conformación, engrasamiento y medidas de la canal. Para los parámetros indicados, únicamente se encontraron diferencias significativas (p<0,05) entre tratamientos en el peso de la canal fría, el engrasamiento de la canal, la longitud de la pierna y el índice de compacidad, siendo superior, en todos estos parámetros, el valor correspondiente al grupo "ad libitum". Así mismo, se observó una tendencia (p<0,10) en el valor del rendimiento a la canal; correspondiendo también el mayor valor al grupo "ad libitum".

Tabla 2. Características de la canal de los dos tratamientos experimentales.

	Tratamientos		Nivel de
	"Ad libitum"	"Restringido-Ad libitum"	Significación
Peso de la canal fría (kg)	134,5±6,01	118,9±3,83	*
Rendimiento a la canal[1]	61,2±1,01	58,3±1,13	+
Conformación de la canal[2]	2,12±0,350	1,78±0,147	ns
Engrasamiento (escala 1-5)	3,30±0,164	2,68±0,167	*
Longitud de la canal (cm)	100,2±1,67	99,7±1,87	ns
Longitud de la pierna (cm)	68,9±0,42	66,5±1,01	*
Perímetro de la pierna (cm)	91,6±1,47	89,7±1,34	ns
Profundidad del pecho (cm)	31,1±0,47	30,8±0,53	ns
Profundidad del flanco (cm)	23,6±1,29	23,0±0,75	ns
Diámetro de la pierna (cm)	21,4±0,76	20,2±0,49	ns
Indice de compacidad (kg/cm)	1,36±0,072	1,20±0,054	*
Espesor grasa dorsal (mm)	9,0±1,22	7,2±1,09	ns

*=p<0,05, += p<0,10, ns= p>0,10. [1](peso canal caliente/peso vivo)*100. [2]O=1, R=2, U=3

En la tabla 3 se indican los pesos de las piezas obtenidas tras el despiece comercial de la media canal izquierda. En todas las partes consideradas el valor medio fue siempre superior en el grupo "ad libitum" que en el "restringido-ad libitum". Si bien, para las piezas de cadera, morcillo delantero, falda y pecho las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas (p>0,10).
Cuando el peso de las partes se expresa como proporción del peso de la media canal las diferencias entre tratamientos no fueron estadísticamente significativas (p>0,10) en ninguna de las piezas consideradas.

Tabla 3. Peso (kg) de las partes del despiece comercial de la media canal izquierda para los dos tratamientos experimentales.

	Tratamientos		Nivel de
	"Ad libitum"	"Restringido-Ad libitum"	Significación
Solomillo	1,44±0,056	1,28±0,034	*
Lomo	5,82±0,457	4,92±0,192	*
Aguja	6,61±0,374	5,80±0,278	*
Babilla	3,31±0,138	2,99±0,125	*
Cadera	3,16±0,166	2,84±0,126	ns
Contra	4,89±0,244	4,27±0,160	*
Tapa	4,74±0,222	4,27±0,159	+
Brazuelo	5,06±0,214	4,58±0,170	*
Morcillo Delantero	2,04±0,157	1,83±0,091	ns
Morcillo Trasero	1,31±0,083	1,08±0,049	*
Falda	5,39±0,305	4,67±0,412	ns
Pecho	3,27±0,188	3,25±0,224	ns
Huesos	15,23±0,433	14,25±0,574	+
Sebos+Restos	4,65±0,578	3,28±0,310	*

*=p<0,05, += p<0,10, ns= p>0,10

Las diferencias encontradas entre tratamientos en el peso de la canal y, especialmente en el peso de las piezas de mayor valor comercial, hace que la ventaja de una menor ingestión de leche en el grupo "restringido-ad libitum" pueda verse anulada por el menor valor del producto final obtenido.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado como parte del proyecto INIA SC99-013-C2-2 y con la colaboración incondicional durante el proceso de sacrificio y despiece de la empresa "Núcleo de Explotaciones Agropecuarias de León, NEAL, S.A.".

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Mantecón, A.R., López, J., Lavín, P., Cerdeño, A., Giráldez, F.J. (2001). Rendimientos productivos en terneros lechales: efecto de una restricción de la ingestión en la primera etapa del crecimiento. *ITEA*, Volumen Extra, 22, (en prensa).

SAS (1989). *SAS/STAT User's Guide Int.* (Version 6, 4th ed.). SAS Institute Inc. Cary. NC.

Influencia del tiempo de permanencia en la pradera y de las características del concentrado sobre la producción de leche en la oveja Latxa: Datos preliminares.

Perojo, A.; Oregui, L.M.

Neiker, Granja Modelo de Arkaute, Apdo. 46, E-01080 Vitoria-Gasteiz (Spain)

INTRODUCCIÓN

La oveja Latxa en lactación pasta durante un número de horas limitado, que se incrementa a medida que avanza el periodo de ordeño, permaneciendo en la pradera entre 4 y 8 horas/día (Oregui et al., 2000). Este sistema de pastoreo, al cual denominaremos Pastoreo a Tiempo Parcial (PTP), se complementa con forrajes conservados y concentrados, constituyendo en su conjunto la dieta de los animales.

En la presente comunicación, se exponen los primeros resultados de la influencia del tiempo de pastoreo y de las características de la fuente principal de proteína del concentrado sobre la producción lechera y su composición. Esto, forma parte de un estudio más amplio que pretende analizar el comportamiento en pastoreo de las ovejas Latxas en un régimen como el indicado, así como la posible influencia (Cunninghan et al.,1996; Santos et al.,1998) de una mayor o menor solubilidad de la proteína aportada, sobre los diferentes parámetros productivos

MATERIAL Y MÉTODOS.

La experiencia se realizó en primavera (Abril y Mayo) durante 8 semanas. Se dispuso de cuatro lotes de 12 ovejas Latxas multiparas en el segundo mes de lactación, los cuales se formaron teniendo en cuenta la producción lechera, el peso vivo y la condición corporal de los animales.

Manejo. Cada uno de los lotes experimentales se manejó de forma independiente tanto en aprisco como en pastoreo. Dos de los lotes permanecieron 4horas/día en la parcela, mientras que los otros dos lo hicieron 7 horas/día. En todos los casos, el pastoreo comenzó después del ordeño de la mañana.

Tabla 1: **Composición en porcentajes de los concentrados. Tipo A, con harina de soja tratada, mealpass, y Tipo B, harina de soja 47%.**

	Tipo A	Tipo B
Pulpa	19.50	19.50
Maíz	9.70	9.70
Cebada	48.50	48.50
Soja	20.50	19.64
Melaza Caña	0.36	1.25
Fosfato Bicalcico	0.27	0.27
Carbon. Cálcico	0.66	0.66
Micro Ibérica	0.48	0.48
UFL	1.10	1.10
Proteína Bruta	19,59	19,39

Todos los lotes recibieron 520 gramos/día de concentrado repartidos en dos tomas que coincidían con los ordeños. A dos lotes, uno de cada tiempo de pastoreo, se les administró el pienso de tipo A (tabla 1), el cual contenía como fuente principal de proteína harina de soja tratada (Mealpass ®). En los dos restantes se distribuyó pienso del tipo B con soja comercial no tratada. Además, a partir de las 18 horas, después del ordeño de la tarde, cada lote dispuso de 0,6kg. MF de silo de hierba por animal.

Calidad y producción lechera. Semanalmente se determinó la producción lechera, mañana y tarde, de forma

individual para cada oveja. Para ello se tomó una alicuota de leche para su posterior análisis (grasa y proteína) en el Instituto Lactológico de Lekunberri.

A partir de los datos de composición y producción, se halló la producción lechera estándar. La fórmula empleada fue:

PLS = PLdia*(0,072*GP+0,042*PP+0,2224)
GP= Porcentaje de grasa
PP= Porcentaje de proteína

Evolución del peso. Una vez por semana se pesaron las ovejas después del ordeño de la mañana.

Análisis estadístico. Para el tratamiento de los datos obtenidos se realizó un análisis de la covarianza mediante un modelo lineal generalizado SAS (1987). El modelo utilizado fue el siguiente:

$$Y=Y0+H_i+PROT_j+CONTROL_k+H_i*PROT_j+H_i*CONTROL_k+PROT_j*CONTROL_k$$

Donde Y representa las distintas variables estudiadas: Producción lechera, Producción Lechera Standard, Grasa Ponderada, Proteína Ponderada, Gramos de grasa y gramos de proteína; Y0 es el valor inicial de cada variable, H es el número de horas presentes en pradera (i=2), PROT es el tipo de proteína (j=2) y CONTROL es la semana de estudio (k=8).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran los valores medios de los parámetros analizados, junto con el grado de significancia de cada uno de los tratamientos.

Tabla 2: Valores medios ± e.s. de los parámetros analizados para los diferentes lotes sometidos a los tratamientos. Producción lechera (PL, ml/día), Producción Lechera Standard (PLS, ml/día), Porcentaje de Grasa (GP), Porcentaje de Proteína (PP), Gramos de grasa/día (Grg) y Gramos de proteína/día (Grp) en la leche , Proteína (Prot) y Horas (H).

	Tratamientos						
	Protegida		No Protegida				
	4	7	4	7	Prot	H	Prot*H
PL	928,5±15,2 ^{c}	1016,6±14,5 $^{a\,b}$	965,1±14,5 ^{bc}	992,8±14,5 $^{a\,b}$	*	***	
PLS	934.9±15,0 ^{b}	978.4±14,1 ^{a}	951.1±49,1 $^{a\,b}$	978.6±14,1 ^{a}		*	
GP	7.94±0,02 ^{a}	7.58±0,07 ^{b}	7.57±0,07 ^{b}	7.26±0,07 ^{c}	***	***	
PP	5.62±0,03 ^{a}	5.49±0,03 ^{b}	5.62±0,03 ^{a}	5.47±0,08 ^{b}		***	
Grg	71.51±1,22	74.07±1,15	71.39±1,14	72.65±1,15			
Grp	51.30±0,89 ^{b}	53.91±0,79 ^{b}	53.38±0,79 ^{ab}	55.06±0,79 ^{b}	*	*	

*:p<0.05; **:p<0.005; ***:p<0.001.

Producción y composición lechera. A lo largo de la experiencia, el número de horas de estancia en la pradera afectó de forma significativa a la mayoría de los parámetros analizados. La producción lechera, tanto bruta como estandarizada, fue ligeramente superior (tabla 2) cuando el número de horas pastando fue mayor, lo que podría deberse a una mayor ingestión de hierba.

Por el contrario, la concentración de grasa y proteína tenderían a reducirse, posiblemente debido a los coeficientes de correlación negativos existentes entre la cantidad de leche producida y los porcentajes de grasa y proteína (Molina et

al.,1994). Esto explicaría que la diferencia en PLS (943 vs. 928 ml/día en 4 y 7 h respectivamente) sea inferior a la de PL (947 vs 1005 ml/día). Por otro lado, este comportamiento cruzado entre PL y composición, hace que la producción de grasa/día sea similar ($p<0,05$) en ambos tiempos de pastoreo (71,4 vs. 73,4 gr/día en 4 y 7 h respectivamente). No así la producción de proteína, la cual tiende a ser mayor cuando el tiempo de pastoreo aumenta (52,3 vs. 54,5).

En lo que al tipo de proteína se refiere, ésta afecto de manera limitada a la PL ($p<0,05$) siendo menor en el caso de la proteína protegida (961 vs 991 ml/día). No obstante, y posiblemente debido al aumento de la concentración de grasa observado al usar proteína protegida, no se contemplan diferencias en la PLS, pero sí se observa una reducción de la proteína total diaria producida (52,6 vs. 54,2 gr/día, $p<0,05$). Esto está en contradicción con lo hallado por Cuninghan et al. (1998) que propone que la incorporación de proteína protegida en la ración podría favorecer la producción lechera y el contenido de proteína en la leche. Sin embargo, Santos et al.(1998) indican, a partir de un estudio de numerosos trabajos, que en dietas isoproteicas, la reducción de degradabilidad ruminal de la proteína tiene como consecuencia una reducción de síntesis de proteína microbiana, de alto valor biológico.

Esta tendencia a la reducción en la producción lechera en los animales que recibieron proteína protegida, se acompañó con una tendencia a una menor recuperación del peso vivo a lo largo del periodo experimental (18 vs. 41 gr/día, $p=0,17$). Ello sería compatible con una menor disponibilidad de energía por parte de estos animales que podría estar relacionada con la disminución de la actividad ruminal, o con una menor energía en el pasto, aspecto que no se ha podido analizar hasta el momento.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta los datos preliminares de esta experiencia, se puede decir que el número de horas presentes en la pradera tendría efectos positivos sobre la producción lechera, no así la utilización de proteína con una menor degradabilidad ruminal.

BIBLIOGRAFÍA

Oregui L.M.; Mantecón A.R.; Valderrabano J.; Goméz Cabrera, A.; 2000. Análisis de los sistemas de alimentación de rumiantes a partir de encuestas a técnicos. Informe del Grupo de Sistemas del la Red Temática de Nutrición de Rumiantes. *Datos sin publicar.*

Cunningham K.D.; Cecava M.J.; Jhonson T.R.; Ludden P.A.; 1996. Influence of source and amount of dietary protein on milk yield by cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 79: 620-630

Molina, P. Y Gallego, L.;1994. Composición de la leche: Factores de variación. De *Ganado ovino: Raza Manchega.* Gallego, L.; Torres, A.; Caja, G. Ed. Mundi Prensa.

Santos F.A.P.; Santos J.E.P.; Theurer C.B.; Huber J.T.; 1998. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12 year literature review. *J. Dairy Sci.*, 81: 3182-3213.

SAS, 1987. SAS/Stat User's Guide. Cary, NC, USA.

LA INGESTIÓN DE FORRAJE Y DE CONCENTRADO EN OVEJAS DE RAZA ASSAF EN RELACIÓN CON EL NIVEL DE PRODUCCIÓN DE LECHE Y LA SEMANA DE LACTACIÓN

J. Luiz Ramella, J.S. González, A.R. Mantecón[1], R. Peláez y S. López
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León.
[1]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apartado 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

Cuando nos enfrentamos con el racionamiento del ganado lechero hay dos aspectos de especial trascendencia, el conocimiento de la capacidad de ingestión de los animales y el establecimiento de los niveles máximos de concentrado que permitan cubrir la mayor parte de las demandas energéticas y proteicas de esta fase del ciclo productivo de los animales sin determinar trastornos digestivos (AFRC, 1993; Jarrige, 1988; MLC, 1988; NRC,1985).

La predicción de la ingestión no es una tarea fácil (ARC, 1980; NRC, 1987), aunque está bien establecido que sigue un curso similar al del nivel de producción de leche, alcanzando la máxima capacidad de ingestión con cierto retraso en relación al momento en el que se alcanza el pico de la curva de lactación. Los niveles de concentrado compatibles con una buena salud de animal son materia de bastante controversia, ya que pueden verse afectados por multitud de factores, relacionados con el propio concentrado, con el forraje al que suplementan y con el manejo de la alimentación (Beachemin y Rode, 1997).

En las ovejas de raza Assaf no se dispone de información relativa a su capacidad de ingestión durante la lactación ni a su "tolerancia" a niveles altos de concentrado. En el presente trabajo se determina la capacidad de ingestión de forraje y de concentrado en ovejas Assaf con distinto nivel de producción y en tres momentos distintos de la lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 23 ovejas primíparas de raza Assaf que fueron mantenidas en grupo con sus corderos durante el primer mes después del parto, realizándose durante este periodo dos ordeños diarios para extraer de la ubre la leche no mamada por los corderos y acostumbrar a los animales a la maquina de ordeño. Una vez destetados los corderos, las ovejas fueron introducidas en jaulas individuales de 2 x 1 m, provistas de dos comederos, uno para forraje y otro para concentrado, y de un bebedero. Las ovejas fueron ordeñadas dos veces al día a las 8,00 y a las 18,00 hasta la semana 14 de lactación. Durante este periodo, los animales recibieron a voluntad heno de alfalfa (148 PB, 477 FND y 331 FAD g/kg MS) y un concentrado comercial (194 PB, 264 FND y 100 FAD g/kg MS), retirándose diariamente las cantidades de heno y de concentrado no consumidas. En las semanas 6, 10 y 14 de la lactación se determinaron, durante cinco días consecutivos, las cantidades de heno y de concentrado consumidas diariamente, y se midió la cantidad de leche producida diariamente por cada animal.

Para estudiar el efecto del nivel de producción sobre la ingestión se establecieron tres niveles de producción, alto (1800-2500 g/d), medio (1300-1800 g/d) y bajo (900-1300 g/d), analizándose el efecto del mismo y de la semana de lactación mediante ANOVA (SAS, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones físicas de los animales fueron aceptables durante todo el periodo experimental, no observándose alteraciones importantes de su salud ni signos aparentes de acidosis. Algunos animales, de forma esporádica, presentaron heces blandas sin llegar, en ningún caso, a ser diarreas preocupantes.

Los valores medios relativos a la ingestión de forraje y de concentrado para las ovejas de cada uno de los niveles de producción figuran en la tabla 1.

Tabla 1.- Peso, producción diaria de leche y consumos diarios de forraje y de concentrado para los tres niveles de producción

	NIVEL DE PRODUCCIÓN			
Variables	**Alto (n=9)**	**Medio (n=8)**	**Bajo (n=6)**	**e.s.m.**
Peso (kg)	58,5	60,0	59,8	1,91
Leche (g)	2031^{a}	1555^{b}	1087^{c}	60,4
Concentrado (g MS)	2158^{a}	1950^{ab}	1806^{b}	111,3
Forraje (g MS)	692	575	539	69,6
Ingestión total (g MS)	2850^{a}	2526^{b}	2345^{b}	103,5
Concentrado (g MS/ kg PV)	$36,9^{a}$	$32,7^{ab}$	$30,2^{b}$	1,71
Forraje (g MS/ kg PV)	11,9	9,6	9,3	1,33
Ingestión total (g MS/ kg PV)	$48,8^{a}$	$42,3^{b}$	$39,5^{b}$	1,74

n : número de animales
e.s.m.: error estándar de la media
a, b, c Valores con diferente superíndice dentro de la misma línea difieren significativamente (P<0,05)

El peso de los animales fue similar en los tres niveles de producción, siendo las diferencias en producción de leche entre los tres niveles de producción del orden de 500 g.

La ingestión de forraje no se vio afectada por el nivel de producción de los animales, mientras que la ingestión de concentrado fue mayor cuanto mayor fue el nivel de producción de los animales, siendo estadísticamente superior en los animales con un nivel de producción alto que en los del nivel de producción bajo. Con la ingestión total de MS, expresada tanto en términos absolutos como en relación con el PV de los animales, se observaron estas mismas diferencias.

Los valores medios relativos al peso, producción de leche e ingestión durante las semanas 6, 10 y 14 de lactación figuran en la tabla 2.

El peso de las ovejas fue superior en la semana 14 que en las semanas 6 y 10 de lactación. La producción de leche por el contrario alcanzó los valores más elevados las semanas 6 y 10 y los niveles más bajos la semana 14.

La ingestión de concentrado no se vio afectada por la semana de lactación, mientras que la de forraje se incrementó a medida que avanzaba la lactación, de forma similar a como lo hizo la ingestión total de MS expresada en términos absolutos. Los cambios en el PV determinaron que la ingestión total de MS expresada en relación con el PV no se viera afectada por la semana de lactación.

Tabla 2.- Peso, producción diaria de leche consumos diarios de forraje y de concentrado registrados en las semanas 6, 10 y 14 de lactación

Variables	SEMANAS LACTACIÓN			e.s.m.
	6	10	14	
Peso (kg)	$58,7^{b}$	$58,0^{b}$	$61,4^{a}$	0,55
Leche (g)	1662^{ab}	1679^{a}	1516^{b}	52,.9
Concentrado (g MS)	2016	2031	1935	74,0
Forraje (g MS)	414^{b}	636^{a}	784^{a}	52,7
Ingestión total (g MS)	2430^{b}	2667^{ab}	2719^{a}	95,6
Concentrado (g MS/ kg PV)	34,4	35,0	31,8	1,25
Forraje (g MS/ kg PV)	$7,1^{b}$	$11,1^{a}$	$13,1^{a}$	0,91
Ingestión total (g MS/ kg PV)	41,5	46,1	44,8	1,66

e.s.m.: error estándar de la media

a, b, c Valores con diferente superíndice dentro de la misma línea difieren significativamente (P<0,05)

Los datos de ingestión voluntaria (g MS/kg de peso vivo) encontrados en este trabajo son sensiblemente mayores que los encontrados en la bibliografía internacional (ARC, 1980; MLC, 1988) lo cual puede ser explicado por tratarse de una raza ovina seleccionada para la producción lechera y por la baja relación forraje/concentrado de la ración, que podría impedir que se manifestaran los mecanismos físicos limitantes de la ingestión.

Desde un punto de vista aplicativo, el no encontrar alteraciones de la fisiología digestiva de los animales con las elevadas proporciones de concentrado en la ración que consumieron a voluntad llevaría a replantearse los sistemas actuales de alimentación del ganado ovino lechero si se pretende la expresión de su máximo potencial productivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFRC. 1993. *Energy and Protein requirements of Ruminants.* CAB International, Wallingford, UK.

ARC 1980. *The Nutrient Requirements of Farm Livestock, No.2 Ruminants.* Commonwealth Agricultural Bureau, Farnham Royal, UK.

Beachemin, K.A. y Rhode, M.L. 1997. Minimum versus optimum concentration of fiber in dairy cow diets based on barley silage and concentrates of barley or corn. *J. Dairy Sci,* 80:1629-1639.

Jarrige, R. 1988. *Alimentation des bovins, ovins et caprins.* INRA. Paris.

MLC. 1988. *Feeding the Ewe.* 3rd Edition. Meat and Livestock Commission. Milton Keynes. UK.

NRC. 1985. *Nutrient Requirements for Sheep.* 6th Revised Edition. National Academy Press, Washington DC, USA.

NRC. 1987. *Predicting Feed Intake of Food-Producing Animals.* National Academy Press, Washington DC, USA.

SAS Institute 1993. *SAS companion for the Microsoft Windows Environment, version 6.* SAS Institute Inc., Cary, NC.

¿EXISTE ALGÚN EFECTO NEGATIVO EN EL CEBO DE CORDEROS CUANDO SE INCLUYEN TANINOS HIDROLIZABLES, COMO ADITIVOS, EN EL PIENSO?

M. Raso[1,2], P. Frutos[1], G. Hervás[1], A.R. Mantecón[1] y F.J. Giráldez[1]
[1]Estación Agrícola Experimental de León (CSIC). Apdo 788. 24080 – León
[2]INTA. Estación Experimental Agro-forestal. CC. 88. Esquel, Chubut. Argentina

INTRODUCCIÓN

Trabajos realizados en la Estación Agrícola Experimental de León han demostrado, mediante pruebas *in sacco* e *in vitro*, que los taninos hidrolizables son capaces de disminuir la degradación de la proteína de la torta de soja en el rumen, sin afectar negativamente a su digestibilidad intestinal, siempre y cuando no se sobrepasen unas determinadas dosis (Hervás *et al.*, 2000).

La aplicación práctica de estos resultados podría enfrentarse, aparentemente, con la idea generalizada de que los taninos son tóxicos para los animales, ya que existen numerosos trabajos en los que se describen intoxicaciones del ganado por el consumo de taninos hidrolizables (Spier *et al.*, 1987; Zhu y Filippich, 1992).

No obstante, los suplementos proteicos tratados con taninos serían alimentos complementarios de los suplementos proteicos no tratados y, por lo tanto, entrarían a formar parte de la dieta en la proporción mínima necesaria para ajustar el aporte de proteína no degradable en el rumen. Por lo tanto, la hipótesis planteada por nuestro grupo de investigación fue que, en condiciones prácticas, el consumo de taninos sería lo suficientemente bajo para no resultar tóxico para los animales, ni provocar un rechazo del alimento.

Así pues, este trabajo se llevó a cabo con el objetivo de comprobar si el consumo de una pequeña cantidad de taninos hidrolizables por corderos alimentados, en condiciones prácticas de cebo, con un pienso que contiene torta de soja tratada con estos compuestos, podría resultar tóxico o afectar negativamente a la respuesta productiva de los animales.

MATERIAL y MÉTODOS

Para cumplir este objetivo se realizó una prueba experimental en la que se cebaron, desde los 15 hasta los 25 kg de peso vivo, 14 corderos de raza Merina. Los animales se dividieron en dos grupos experimentales: uno actuó como control (grupo CONTROL) y el otro recibió el tratamiento (grupo TH).

Las condiciones experimentales fueron las mismas para todos los animales. La única diferencia radicó en que la torta de soja utilizada como suplemento proteico en el pienso de los corderos del grupo TH estaba tratada con taninos ("Tanino Vinitanon"; Agrovin, S.A.). Ambos piensos fueron isoproteicos e isoenergéticos y se formularon con cebada, torta de soja, melazas, bicarbonato y corrector vitamíco-mineral. En el conjunto del pienso que incluía la torta de soja tratada, el contenido de taninos hidrolizables resultó de 20 g / kg MS.

El peso vivo y el consumo voluntario de paja y de pienso se registraron durante todo el periodo experimental.

Para realizar un seguimiento del perfil bioquímico de la sangre de los corderos y poder así detectar con prontitud cualquier signo de toxicidad, se tomaron muestras de sangre de cada cordero semanalmente.

Al alcanzar los 25 kg de peso vivo, los corderos fueron sacrificados. Todas las partes del cuerpo se pesaron por separado y se dividieron en dos fracciones: canal y "no canal" (lana, sangre, piel, patas y cabeza, aparato respiratorio, bazo, corazón, hígado, riñones, aparato reproductor, compartimentos digestivos y depósitos de grasa omental, mesentérica y pélvico-renal). La canal se pesó no sólo inmediatamente después del sacrificio, sino también tras 24 horas de oreo. A continuación, cada parte, por separado, se troceó, picó y molió hasta conseguir una adecuada homogenización para poder ser analizada químicamente y determinar su contenido de materia seca, nitrógeno, grasa, cenizas y energía bruta (AOAC, 1990).

Tras el sacrificio, se realizó también un estudio histo-patológico para estudiar si existían signos de toxicidad debidos a la ingestión de taninos hidrolizables. Para ello, se tomaron muestras de esófago, retículo, rumen, abomaso, intestino delgado, válvula ileo-cecal, ciego, hígado y riñón.

Por otra parte, las canales de los corderos del grupo TH se analizaron, mediante cromatografía de líquidos, para comprobar que no quedaban residuos de los principales metabolitos de la degradación de los taninos hidrolizables (ácido gálico, ácido elágico, resorcinol, pirogalol y floroglucinol).

Además, se realizó un estudio de las cinéticas de degradación ruminal de la proteína de cada uno de los dos piensos utilizados, utilizando la técnica de las bolsas de nailon.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

Tal y como era previsible, la degradabilidad efectiva de la proteína fue significativamente menor en el pienso tratado con taninos hidrolizables (0,669 *vs* 0,764; $P<0,05$). Sin embargo, tal y como se pretendió en el diseño, esta pequeña diferencia no fue suficiente para traducirse en una mejora de la respuesta productiva.

Como puede observarse en la tabla 1, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales (CONTROL vs TH) ni en la ingestión voluntaria, que en ningún caso se vio reducida por el consumo de taninos, a pesar de la creencia generalizada de este efecto, ni en el índice de conversión del pienso, ni en la ganancia diaria de peso vivo, ni consecuentemente en la duración del cebo. Además, todos estos valores se encontraron dentro del rango normal descrito en la literatura.

Tampoco se encontraron diferencias ($P>0,05$) entre grupos en los pesos ni proporciones de ninguno de los componentes de la "no canal", ni de la canal o sus rendimientos. En la misma línea, la composición química del cuerpo vacío de los animales de cada grupo tampoco resultó diferente.

Ni el análisis del perfil bioquímico de la sangre, ni el estudio histo-patológico de los corderos evidenciaron ningún signo de toxicidad. Tampoco en el análisis de las canales de los animales del grupo TH se encontró ningún resto de los principales metabolitos de la degradación de los taninos hidrolizables del pienso, ni siquiera en cantidades traza. Aunque es cierto que podrían existir otros metabolitos, parece poco probable que, no habiéndose encontrado ni el más mínimo residuo de ninguno de los metabolitos analizados, puedan aparecer restos de otros mucho menos comunes.

Por todo ello, se concluye que la pequeña cantidad de taninos hidrolizables (20 g / kg MS) ingerida por los corderos alimentados con el pienso que contenía torta de soja tratada con estos compuestos, no resultó tóxica para los animales, ni afectó negativamente a su respuesta productiva.

Tabla 1.- Parámetros indicativos de la respuesta productiva de los animales alimentados con el pienso control (grupo CONTROL) o con el pienso que contenía taninos hidrolizables (grupo TH).

	Grupo CONTROL	Grupo TH	RSD
Ingestión de pienso (g)	848	867	119,9
Ganancia de peso vivo (g/día)	272	250	43,5
Índice de conversión	3,3	3,4	0,30
Duración del cebo (días)	39,7	41,6	6,71
Peso de la canal fría (kg)	11,1	11,2	0,28
Rendimiento comercial (%)	44,3	44,5	1,21
Composición del cuerpo vacío (% PVV)			
Agua	63,9	63,5	1,56
Proteína	15,9	15,9	0,68
Grasa	14,5	14,8	2,05
Cenizas	3,3	3,4	0,33
Energía del cuerpo vacío (MJ/Kg PVV)	9,6	9,9	0,64

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos experimentales en ninguno de los parámetros analizados ($P>0,05$).

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Pérez (Departamento de Patología Animal: Medicina Animal) y a las Dras. Arín, Díez y García del Moral (Departamento de Bioquímica y Biología Molecular) de la Universidad de León, por su inestimable ayuda en el estudio histopatológico y análisis de las canales para la detección de residuos, respectivamente. Este trabajo forma parte de un proyecto financiado por la Junta de Castilla y León (Proyecto CSI 7/98).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. 15th edition. Washington, D.C.

HERVÁS, G.; FRUTOS, P.; SERRANO, E.; MANTECÓN, A.R. and GIRÁLDEZ, F.J. 2000. Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 135, 305-310.

SPIER, S.J.; SMITH, B.P.; SEAWRIGHT, A.A.; NORMAN, B.B.; OSTROWSKI, S.R. and OLIVER, M.N. 1987. Oak toxicosis in cattle in northern California: clinical and pathologic findings. *JAVMA*, 191, 958-964.

ZHU, J. and FILIPPICH, L.J. 1992. Tannic acid intoxication in sheep and mice. *Research in Veterinary Science* 53, 280-292.

EFECTO DEL NIVEL DE INGESTIÓN Y DEL SEXO EN EL CRECIMIENTO Y EN LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS LECHALES DE RAZA ASSAF

R. Landa, A.R. Mantecón, C. Vieira, J. López, F.J. Giráldez
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080 León.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, con la finalidad de incrementar la producción de leche se ha producido en Castilla y León una reducción del censo de las razas ovinas autóctonas, en beneficio de razas cosmopolitas, entre las que cabe destacar la raza Assaf (Lavín *et al.*, 1997). Como consecuencia de este cambio, ha aumentado la producción y consumo de corderos lechales de raza Assaf.

Numerosos trabajos han sido realizados en nuestro país para estudiar el crecimiento, la composición corporal y la calidad de la canal y de la carne de diferentes razas ovinas, en especial las razas autóctonas (Teixeira *et al.*, 1996; Sañudo *et al.*, 1997; Horcada *et al.*, 1998). Sin embargo, en lo que respecta a la raza Assaf, cuya importancia es cada vez mayor, existe, en general muy poca información.

Por esta razón se planteó el presente trabajo, cuyo objetivo es estudiar el crecimiento y las características de la canal de corderos lechales de raza Assaf.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 24 corderos de raza Assaf (12 machos y 12 hembras), que se distribuyeron en 4 grupos, de 6 animales cada uno, de acuerdo con un diseño factorial 2 x 2, definido por dos niveles de ingestión de leche (AL: *ad libitum* en dos tomas y R: 0,8 de *ad libitum*) y dos sexos.

Los animales fueron destetados a los 2 días de edad y alojados en jaulas individuales, donde permanecieron hasta el momento del sacrificio. La leche se preparó en cada toma (9:00 y 18:00 horas) a partir de leche entera de vaca en polvo, diluyendo ésta en la proporción adecuada para obtener la siguiente composición: 18,5% de MS, 4,5% de PB, 4,9% de grasa y 1,1% de cenizas. Diariamente se pesaron los restos para calcular la ingestión.

Durante el ensayo, los animales se pesaron tres veces por semana. Una vez que alcanzaron los 10 kg de peso vivo se sacrificaron, registrándose los pesos de la canal caliente y de los diferentes componentes de la no canal. Después de 24 horas de oreo, en cámara frigorífica a 4°C, se pesó de nuevo la canal, para estimar las pérdidas por oreo, y se realizó una valoración subjetiva de la conformación, del estado de engrasamiento y de la cantidad de grasa pélvico-renal. La valoración de la canal se completó con el estudio de la morfología, realizándose las siguientes medidas: perímetro (B) y anchura (G) de la grupa, longitud interna de la canal (L) y de la pierna (F) y anchura (Wr) y profundidad (Th) del tórax. La valoración subjetiva y las medidas se realizaron de acuerdo con el método normalizado descrito por Colomer-Rocher et al. (1988).

Para estudiar el efecto del nivel de ingestión, del sexo y de su interacción se realizó un análisis de varianza, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente experimento, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en la ingestión de leche atribuibles al sexo de los animales. Los valores medios de ingestión fueron 1488 ± 35,6 y 1050 ± 16,2 g.cordero^{-1}.día^{-1} para los grupos *ad libitum* (AL) y restringido (R), respectivamente.

Como se puede observar en la Tabla 1, el sexo de los animales no influyó significativamente (P>0,05) ni en la ganancia diaria de peso, ni en los pesos de la canal y no canal, así como tampoco en el índice de conversión, en las pérdidas por oreo y en el rendimiento comercial.

Tabla 1. Valores medios de la ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión (IC), peso vivo vacío (PVV), peso de la canal caliente (PCC), peso de la no canal (PNC), pérdidas por oreo (PO) y rendimiento comercial (RC) para los diferentes tratamientos experimentales.

	[1]Nivel de ingestión		Sexo			[2]Análisis de varianza		
	R	AL	Machos	Hembras	RSD	NI	S	NI*S
GDP (g.día^{-1})	150	253	213	200	30,08	***	NS	NS
IC(g MS/g GDP)	1,26	1,07	1,13	1,19	0,102	***	NS	NS
PVV (kg)	9,49	9,39	9,37	9,50	0,224	NS	NS	NS
PCC (kg)	5,62	5,41	5,47	5,54	0,226	*	NS	NS
PNC (kg)	3,87	3,98	3,90	3,96	0,119	*	NS	NS
PO (%)	3,87	2,57	2,78	3,54	1,083	*	NS	NS
RC (%)	53,65	52,50	52,70	53,35	1,952	NS	NS	NS

[1]R: restringido; AL: ad libitum en dos tomas
[2]Fuente de variación: NI: nivel de ingestión, S: sexo, NI*S: nivel de ingestión x sexo; Nivel de significación: NS: P>0,05; *: P<0,05; ***: P<0,001. , RSD: desviación estándar residual

En la Tabla 2 se presentan los datos relativos a las características de la canal. Tal y como se puede apreciar, la conformación, el estado de engrasamiento y la cantidad de grasa pélvico-renal, así como la morfología de la canal tampoco se vieron afectadas significativamente (P>0,05) por el sexo de los animales. Estos hallazgos sugieren que en la raza Assaf el dimorfismo sexual no se manifiesta en esta fase inicial del desarrollo.

En lo que se refiere al nivel de ingestión, como cabría de esperar, la ganancia diaria de peso fue significativamente (P<0,05) superior en los corderos del grupo AL y, como consecuencia, fue menor el índice de conversión. Los valores de GDP e IC, por otra parte, son similares a los observados en corderos de raza Churra criados en condiciones similares (Mantecón, 1986).

El nivel de ingestión no influyó (P>0,05) ni en el peso vivo vacío ni en la morfología de la canal, con excepción de la anchura de tórax, pero sí en el peso de la canal caliente, que fue significativamente (P<0,05) menor en los corderos del grupo AL.

Esta circunstancia, unida al hecho de que las pérdidas por oreo también fueron menores en las canales de los corderos del grupo AL, sugiere la existencia de diferencias en el grado de engrasamiento de la canal. En este sentido, diferentes autores han observado que el contenido de grasa en la canal de corderos lechales

aumenta al hacerlo el nivel de ingestión y que las pérdidas por oreo disminuyen al aumentar el contenido de grasa de la canal (Mantecón, 1986; Manso, 1994). Cabe señalar, no obstante, que, en el presente experimento no se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en el grado de engrasamiento (EE) ni en la cantidad de grasa pélvico-renal, aunque esta valoración se efectuó de forma subjetiva y, por ello, podría ser imprecisa.

Tabla 2. Valores medios de la conformación de la canal (C), estado de engrasamiento (EE), cantidad de grasa pélvico-renal (GPR), longitud interna de la canal (L) y de la pierna (F), perímetro (B) y anchura de la grupa (G) y anchura (Wr) y profundidad (Th) del tórax para los diferentes tratamientos experimentales.

	[1]Nivel de ingestión		Sexo			[2]Análisis de varianza		
	R	AL	Machos	Hembras	RSD	NI	S	NI*S
Valoración subjetiva								
C (puntos)	2,7	3,2	3,1	2,8	0,593	T	NS	NS
EE (puntos)	2,3	2,5	2,3	2,5	0,509	NS	NS	NS
GPR (puntos)	1,9	2,0	1,8	2,1	0,370	NS	NS	NS
Morfología								
L (cm)	40,55	40,00	39,84	40,66	0,998	NS	NS	NS
F (cm)	29,05	28,27	28,57	28,68	1,085	NS	NS	NS
B (cm)	42,24	42,25	42,07	42,41	0,796	NS	NS	NS
G (cm)	14,86	14,84	15,07	14,63	0,820	NS	NS	NS
Wr (cm)	12,31	13,33	12,94	12,79	0,572	***	NS	NS
Th (cm)	18,08	17,30	17,54	17,76	1,135	NS	NS	NS

[1]R: restringido; AL: ad libitum en dos tomas
[2]Fuente de variación: NI: nivel de ingestión, S: sexo, NI*S: nivel de ingestión x sexo; Nivel de significación: NS: P>0,10;T: P<0,10; * P<0,05; *** P<0,001; RSD: desviación estándar residual.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado dentro del proyecto CICYT-FEDER IFD1997-1898. R. Landa ha disfrutado de una beca predoctoral de la UNICEN (Tandil, Argentina).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Colomer-Rocher, F., Delfa, R., Sierra, I. 1988. Cuadernos I.N.I.A.,17: 19-41.

Horcada,A., Beriain, M.J., Purroy, A., Lizaso, G. and Chasco, J. 1998. *Animal Science*, 67, 541-547.

Lavín, P., Mantecón, A.R. y Giráldez, F.J. 1997. ITEA, vol. extra 18, 782-784.

Manso, T., Mantecón, A.R., Castro, T. and Iason, G.R. 1998. *Animal Science*, 67, 513-521.

Mantecón, A.R. 1986. Tesis Doctoral. Universidad León. España.

Sañudo, C., Campo, M.M., Sierra, I., María, G.A., Olleta, J.L. and Santolaria, P. 1997. *Meat Science*, 46, 357-365.

Teixeira, A., Delfa, R. and Treacher, T. 1996. *Animal Science*, 63, 389-394.

SAS . 1989. SAS/STAT® User's Guide Int. (Versión 6, 4th Ed.) SAS Inst. Inc., Cary, NC.

ESTUDIO COMPARATIVO DEL CRECIMIENTO Y DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE CORDEROS ALIMENTADOS CON PIENSOS ELABORADOS CON MAÍZ O CEBADA ENTERA Y SUPLEMENTADOS O NO CON FORRAJE

F.J. Giráldez, R. Landa, A. Cerdeño, P. Frutos y A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. 24080. León

INTRODUCCIÓN

Diferentes estudios han demostrado, por una parte, que el procesado de los cereales no mejora el índice de conversión en corderos en cebo intensivo y, por otra, que puede suprimirse el forraje de la ración, siempre y cuando el cereal se administre entero (Orskov et al.,1974; Castrillo et al.,1989; McClure et al.,2000). La supresión del forraje, evidentemente, supone una ventaja económica, pero el empleo de cereal en grano también podría hacer innecesario el uso de aditivos en el pienso para controlar el pH del rumen. Esta circunstancia es de gran importancia, puesto que el empleo de aditivos en la alimentación de los rumiantes es cada vez más restrictivo en la Unión Europea.

No obstante, es obligado destacar que existen pocos estudios comparativos sobre el efecto del tipo de cereal, cuando se administra entero, sobre el rendimiento productivo y las características de la canal de corderos.

Teniendo en consideración lo expuesto, el presente trabajo se ha planteado para estudiar el crecimiento y las características de la canal de corderos alimentados con piensos, carentes de aditivos y elaborados con maíz o cebada entera, y suplementados o no con forraje.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar esta prueba, se utilizaron 32 corderos de raza Merina, destetados a las 8 semanas de edad y con un peso medio de 16,97±0,49 kg. Los corderos se distribuyeron en 8 lotes experimentales, de 4 animales cada uno, equilibrados para el peso vivo y edad. Se asignaron, al azar, 2 lotes a cada uno de los siguientes tratamientos experimentales: **1)** Alimentación con paja de cebada y pienso C [75% de cebada en grano, 20% de torta de soja, 2% de melazas, 2% de cloruro cálcico, 0,8% de cloruro sódico y 0,2% de corrector vitamínico-mineral]; **2)** Alimentación con pienso C; **3)** Alimentación con paja de cebada y pienso M [75% de maíz en grano, 20% de torta de soja, 2% de melazas, 2% de cloruro cálcico, 0,8% de cloruro sódico y 0,2% de corrector vitamínico-mineral] y **4)** Alimentación con pienso M. La composición química de los piensos utilizados fue la siguiente: 955 y 945 g de MS/kg, 901 y 890 g de MO/kg, 197 y 157 g de PB/kg y 137 y 121 g de FND/kg para el pienso C y M, respectivamente.

El período experimental tuvo una duración de 32 días. Al finalizar el mismo, todos los corderos fueron trasladados a un matadero, donde fueron sacrificados después de un período de ayuno de 12 horas.

A lo largo del ensayo, se controló diariamente la ingestión de forraje y de pienso. La oferta diaria se calculó para permitir restos de 200 g/kg de alimento ingerido. Diariamente se tomaron muestras del alimento rehusado para determinar su contenido de materia seca. Las muestras de pienso pertenecientes a cada lote y semana se mezclaron y se tomó una muestra para determinar su contenido de nitrógeno.

Los animales se pesaron dos días consecutivos al inicio del ensayo, para estimar el peso inicial, y posteriormente dos veces por semana hasta su traslado al matadero. Inmediatamente antes del sacrificio fueron nuevamente pesados (peso de sacrificio) y tras el mismo se registró el peso de la canal caliente. Después de 24 horas de oreo, se pesó de nuevo la canal, para estimar las pérdidas por oreo, se midió el color y se realizaron las siguientes medidas para determinar su morfología: longitud de la pierna (F), anchura (G) y perímetro (B) de la grupa y profundidad (Th) y anchura (Wr) del tórax, de acuerdo con el procedimiento descrito por Colomer-Rocher et al. (1988). Para medir el color se empleó un espectrocolorímetro MINOLTA CM-2002, utilizando el espacio de color CIE-L*a*b. Las lecturas se realizaron por quintuplicado en la cara interna de la pierna (músculo semimembranoso) y en la grasa subcutánea, situada en la base de la cola.

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza para estudiar el efecto de la supresión de paja de la ración (Forraje+pienso vs sólo pienso) y del tipo de cereal (cebada vs maíz). Para realizar los análisis se empleó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1, se recogen los valores medios de consumo de paja y de pienso, de la ganancia diaria de peso y del índice de conversión para los diferentes tratamientos.

Tabla 1. Valores medios de ingestión de paja (IP) y de pienso (IPS), ganancia diaria de peso (GDP), índice de conversión (ICV), peso vivo de sacrificio (PVS), peso canal caliente (PCC), pérdidas por oreo (PO) y rendimiento comercial (RC) para los diferentes tratamientos experimentales.

	Forraja+pienso		Sólo pienso			[1] A. varianza		
	Cebada	Maíz	Cebada	Maíz	RSD	D	T	D*C
IP(g MS.animal^{-1}.día^{-1})	18	24	----	----	3,94	--	NS	--
IPS(g MS.animal^{-1}.día^{-1})	891	847	885	836	412,6	NS	NS	NS
GDP(g.animal^{-1}.día^{-1})	306	267	300	297	1,47	NS	NS	NS
ICV(g alimento/kg GDP)	3,0	3,3	2,9	2,8	0,06	NS	NS	NS
PVS (kg)	26,1	25,5	26,4	26,4	1,95	NS	NS	NS
PCC (kg)	12,3	12,6	12,5	12,9	0,96	NS	*	NS
PO (%)	2,6	2,6	2,8	2,6	0,23	NS	NS	NS
RC (%)	45,8	47,6	46,4	48,3	1,65	NS	*	NS

[1]Fuentes de variación: D: efecto del tipo de dieta (Forraje+pienso vs sólo pienso), T: tipo de cereal (cebada vs maíz); Nivel de significación: ns: P>0.05; * P<0.05;

Como cabría esperar, el consumo de paja fue similar con ambos tipos de cereal y, en general, claramente inferiores a los recogidos en la literatura para corderos de características similares alimentados con cereales molidos (Cañeque et al., 1987; Manso et al., 1998). La ingestión de pienso y el índice de conversión no se vieron afectados significativamente (P>0,05) ni por la supresión de forraje de la ración ni por el tipo de cereal empleado para elaborar el pienso. La ausencia de diferencias entre animales suplementados y no suplementados con forraje puede considerase lógica, dado el escaso consumo de paja realizado por los animales. Por otra parte, los valores de ingestión están en concordancia con los obtenidos por otros autores en corderos alimentados únicamente con pienso (Castrillo et al., 1989).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en el ritmo de crecimiento (GDP) ni en la morfología de la canal (medidas F, G, B, Th y Wr), pero

sí en el peso de la canal caliente y en el rendimiento comercial, correspondiendo los mayores valores a los corderos que consumieron maíz. Estas diferencias probablemente están relacionadas con un mayor consumo de energía por parte de los corderos que recibieron maíz, que posiblemente se tradujo en un mayor engrasamiento de la canal.

Tabla 2. Morfología de la canal (longitud de la pierna (F), anchura (G) y perímetro (B) de la grupa, profundidad (Th) y anchura (Wr) del tórax) y color de la carne y de la grasa (parámetros L*,a*, b*) para los diferentes tratamientos experimentales.

	Forraje+pienso		Sólo pienso			[1]A. varianza		
	Cebada	Maíz	Cebada	Maíz	RSD	D	T	D*C
Morfología								
F (cm)	26,6	26,2	26,8	27,0	1,03	NS	NS	NS
G (cm)	15,1	15,6	15,6	15,1	0,61	NS	NS	NS
B (cm)	49,9	49,7	51,4	50,0	0,99	NS	NS	NS
Th (cm)	22,6	22,9	23,0	23,0	0,71	NS	NS	NS
Wr (cm)	17,6	17,3	17,4	16,6	1,24	NS	NS	NS
Color carne								
L*	43,8	43,3	43,4	43,2	2,15	NS	NS	NS
a*	11,6	12,8	11,9	12,4	1,82	NS	NS	NS
b*	8,5	9,1	8,1	8,8	1,49	NS	NS	NS
Color grasa								
L*	66,2	66,3	66,7	65,2	2,48	NS	NS	NS
a*	3,8	3,6	3,8	4,0	1,19	NS	NS	NS
b*	11,5	9,8	11,8	11,4	1,57	NS	NS	NS

[1]Fuentes de variación: D: efecto del tipo de dieta (Forraje+pienso vs sólo pienso), T: tipo de cereal (cebada vs maíz); Nivel de significación: NS: P>0.05; * P<0.05;

En lo que respecta al color, es sabido que este parámetro, especialmente en la grasa, puede variar con la dieta consumida por los animales, fundamentalmente debido a diferencias entre alimentos en su contenido de carotenos y xantofilas. En general, el maíz presenta un mayor contenido de estos pigmentos que la cebada, por lo que, *a priori*, podrían esperarse un efecto del tipo de cereal consumido en el color de la canal. En el presente estudio, sin embargo, no se observaron diferencias en ninguno de los parámetros de color de la carne ni de la grasa. Estos resultados, no obstante, deben tomarse con precaución, en especial en lo que a la grasa se refiere, ya que la acumulación de grasa en la base de la cola podría haber sido insuficiente para obtener estimaciones fiables del color.

AGRADECIMIENTOS

El presente estudio ha sido realizado en colaboración con las empresas INATEGA,S.A y CORDECEBO,S.A. R. Landa ha disfrutado de una beca predoctoral de la UNICEN (Tandil, Argentina).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cañeque, V., Guía, E. y Lauzurica, S. 1987. ITEA, vol extra, 156-158.
Colomer-Rocher, F., Delfa, R., Sierra, I. 1988. Cuadernos INIA, 17, 19-41.
Castrillo,C., Guada,J.A. y Gasa,J. 1989. Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim.,4,111-119.
Manso, T., Mantecón, A.R., Giráldez, F.J., Lavín, P. and Castro, T. 1998. Small Ruminant Res., 29, 185-191.
McClure, K.E., Solomon, M.B. and Loerch, S.C. 2000. J. Anim. Sci., 78, 1117-1124.
Orskov, E.R., Fraser, C. and Gordon, F.G. 1974. Br. J. Nutr., 32, 59-69.
SAS, 1989. SAS/STATR User's Guide Int. (version 6, 4th De.). SAS Inst. Inc, Cary, NC.

UTILIZACION DE ACEITE DE PALMA EN RACIONES PARA CEBO INTENSIVO DE CORDEROS: INGESTIÓN, DIGESTIBILIDAD Y RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS

T. Castro[1], T. Manso[2], A. R. Mantecón[3], V. Jimeno[4]

[1]Dpto. de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM. 28040 Madrid.
[2]Dpto. Ciencias Agroforestales. E.T.S.I. Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia
[3]Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo de correos 788. 24080 León.
[4]Dpto. Producción Animal. E.U.I.T. Agrícola. Universidad politécnica. 28040 Madrid

INTRODUCCION

Las raciones para cebo necesitan una alta densidad energética. Las materias primas que se utilizan aportan un 2-3% de EE, por lo que la incorporación de grasa resulta imprescindible para obtener los niveles energéticos adecuados. Sin embargo, la incorporación de grasas a las raciones de rumiantes se acompaña de alteraciones en la fermentación ruminal, mas acusadas en el caso de grasas insaturadas (Zinn, 1989; Zinn y Plasencia, 1993) Existen en el mercado las denominadas grasas by-pass que evitan parcialmente estos inconvenientes.

Por otra parte, parece probable que a medio o corto plazo se prohiba el empleo grasas de origen animal en la alimentación de los animales. Son muy pocos los trabajos realizados sobre el empleo de grasas de origen vegetal en raciones de cebo, y son particularmente escasos los realizados en el cebo intensivo de corderos.

El objetivo de este trabajo es estudiar los efectos de la incorporación de aceite de palma, tal cual, o en forma de jabón cálcico, en raciones de cebo intensivo de corderos.

MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este trabajo se utilizaron 30 corderos destetados de raza Ojalada de 14,11 kg de peso vivo medio inicial distribuidos en 5 grupos que recibieron las raciones experimentales: Grupo testigo **SG** (sin grasa añadida) **BP** (nivel bajo de aceite de palma), **BJ** (nivel bajo de jabón cálcico), **AP**(Nivel alto de aceite de palma) **AJ** (nivel alto de jabón cálcico).

Las raciones experimentales con grasa añadida se formularon para que fuesen isoenergéticas y con la misma relación energía proteína. EL jabón cálcico utilizado fue MAGNAPAC (Norel, S.A.) obtenido a partir de ácidos grasos destilados de aceite de palma.

Durante todo el periodo experimental los corderos fueron alojados en jaulas individuales y recibieron como forraje, paja de cereales *ad líbitum*. La ingestión de alimentos fue controlada diariamente en cada cordero, y el peso vivo de los animales 2 veces por semana hasta que alcanzaron los 25 kg. Las raciones experimentales y su composición química se muestran en la tabla 1.

Simultáneamente se realizó una prueba de digestibilidad, para lo cual se utilizaron 20 animales (4 corderos de cada grupo experimental).Diariamente, durante 5 días consecutivos se procedió al control de la cantidad de alimento consumido y el total de heces emitidas. Para la recogida de las heces se equipó a los animales con arneses.

Con las muestras de los alimentos y heces se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: humedad, N total, EE y cenizas (AOAC, 1990). El contenido en FND y FAD se realizó según la técnica propuesta por Goering y Van Soest (1970).

Los resultados obtenidos se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS System v.8 mediante análisis de varianza, y se realizaron contrastes ortogonales para analizar las diferencias debidas a los tratamientos. Los contrastes realizados fueron SG vs. BP, BJ, AP y AJ; BP y BJ vs. AP y AJ; y BP y AP vs. BJ y AJ.

Proyecto: 1FD97-2007

Tabla 1. Raciones experimentales y composición química

	SG	BP	BJ	AP	AJ
Composición (%)					
Cebada	10,10	20,0	30,48	10,0	23,0
Maíz	42,32	28,10	20,0	33,59	24,73
Trigo	25,0	17,70	15,0	8,06	4,12
Salvado	-	5,0	5,0	13,00	12,0
H. Soja 44	19,20	23,0	22,82	25,94	25,52
Aceite de palma	-	2,51	-	4,08	-
Jabón cálcico*	-	-	3,08	-	4,96
Carbonato	1,36	1,66	1,60	2,5	2,5
Fosfato	-	-	-	0,12	0,44
Bicarbonato sódico	1	1	1	1	1
Cloruro sódico	0,3	0,3	0,3	1	1
Aroma	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antioxidante	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Corrector	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Análisis calculado					
UFC/kg MS	1,16	1,18	1,18	1,18	1,18
PB (% MS)	17,85	19,50	19,66	20,29	20,21
PDI/UFC	11,04	11,047	11,047	11,047	11,047
EE (%MS)	2,87	5,40	5,39	7,33	7,30
Composición química (% MS)					
MS	96,30	96,41	96,16	96,34	96,43
PB (N x 6,25)	18,6	19,0	19,1	19,9	19,8
EE	3,03	5,34	4,58	6,56	6,05
FND	11,7	13,8	13,8	13,9	14,9
FAD	3,7	4,6	4,4	4,4	4,9
Cenizas	0,56	0,64	0,76	0,72	1,0

*, Magnapac: 84% ácidos grasos, 11% cenizas (9% calcio), 5% humedad (Norel, s.a.)

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 2 figura la ingestión de alimentos y digestibilidad de las raciones experimentales.

La inclusión de aceite de palma, tal cual o en forma de jabón, dio lugar a una disminución en la digestibilidad de la MS (P=0,08), sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la ingestión total de MS, ni en la ingestión de concentrado.

La ingestión de forraje fue mayor (P = 0,07) en grupo testigo (6,6 g/kg $PV^{0,75}$/d) que en los corderos que recibieron en el pienso suplementado con aceite (5,31, 4,8, 5,1 y 5,4 g/kg $PV^{0,75}$/d en los grupos BP, BJ, AP, y AJ respectivamente). Numerosos trabajos indican que la incorporación de grasa en las dietas de rumiantes da lugar a una disminución en la digestibilidad de la fibra e ingestión (Jenkins y Palmquit 1982, Sutton y col., 1983) que podría ser responsable del menor consumo de forraje observado en los animales suplementados.

La tabla 3 muestra la ganancias de peso, Indice de transformación y días en alcanzar los 25 kg de PV.

Las menores ganancias de peso se observaron en el grupo testigo (P = 0,11). También se observó una tendencia (P = 0,15) a una mayor ganancia de peso en los corderos que recibieron los tratamientos con jabón cálcico, que los que recibieron el aceite de palma tal cual.

***Tabla 2.**, digestibilidad, ingestión de Materia Seca total (MS), ingestión de forraje (IF) e Ingestión de concentrado (IC) de las de las raciones experimentales.*

	SG	BP	BJ	AP	AJ	e.s	C1	C2	C3
Digestibilidad MS (%)	82,40	81,67	79,53	78,23	80,08	2,182	0,08	ns	ns
Ing.MS (g/d)	822,9	813,7	903,7	832,1	826,4	111,51	ns	ns	ns
Ing.MS (g/kgPM/d)	87,4	85,6	96,9	87,9	87,8	9,91	ns	ns	ns
I F (g/d)	62,6	50,1	45,1	48,8	50,2	16,25	0,07	ns	ns
I F (g/kgPM/d)	6,6	5,3	4,8	5,1	5,4	1,69	0,07	ns	ns
I C (g/d)	760,3	763,6	864,6	783,3	776,2	110,88	ns	ns	ns
I C (g/kgPM/d)	80,8	80,3	92,0	82,8	82,5	10,05	ns	ns	ns

e.s., error estándar
C1: SG vs. BP,BJ,AP y AJ; **C2**: BP y BJ vs. AP Y AJ; **C3**: BP y AP vs. BJ y AJ
ns: P>0,05

Los peores índices de transformación (gramos de MS por g de incremento de peso) se observaron en los corderos del grupo testigo. En el caso del índice de transformación del concentrado, los valores registrados fueron de 2,96 frente a 2,79, 2,67, 2,69 y 2,65 registrados en los tratamientos BP, BJ, AP y AJ, respectivamente.

***Tabla 3.** Peso vivo inicial, ganancia de peso (GMD, Indice de transformación de las raciones (IT), del concentrado (ITC) y días en alcanzar el peso de sacrificio (25 kg) de los corderos en los distintos tratamientos experimentales*

	SG	BP	BJ	AP	AJ	s.e.	C1	C2	C3
Peso vivo inicial(kg)	14,4	14,6	13,9	14,4	14,0	1,56	ns	ns	ns
GMD (g/d)	263,10	273,40	325,74	291,59	293,05	44,508	0,11	ns	0,15
IT	3,21	2,97	2,81	2,86	2,82	0,333	0,03	ns	ns
ITC	2,96	2,79	2,67	2,69	2,65	0,307	0.06	ns	ns
Días 25 kg	42,7	38,5	35,2	36,8	38,6	9,549	ns	ns	ns

C1: SG vs. BP,BJ,AP y AJ; **C2**: BP y BJ vs. AP Y AJ; **C3**: BP y AP vs. BJ y AJ
ns: P>0,05

Nuestros resultados parecen indicar que la utilización de aceite de palma en las raciones de cebo intensivo de corderos, a los niveles señalados, mejoran los rendimientos productivos sin perjudicar la ingestión y digestibilidad de los alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

A.O.A.C., 1990. Official methods of the analysis of the AOAC (15th ed.). Washington, DC.
Goering H.K., Van Soest P.J. 1970. USDA, Agr. Hand., washington, 1-22
Jenkins, T.C. y Palmquist, D.L. (1982). J. Anim. Sci. 55: 957
Sutton, J.D., Knight, R.; McAllan, A.B. y Smith, R.H. (1983). Br. J. Nutr. 49:419
Zinn, R.A. (1989).J. Anim. Ci. 67:1029
Zinn, R.A. y Plasencia, A. (1993). J. Anim. Sci. 71:11

VALOR NUTRITIVO DE LA OFERTA ALIMENTICIA DURANTE EL PERIODO FINAL DE PREPARACIÓN DEL TORO DE LIDIA

M. E. Sánchez Rodríguez*, S. Alvarez Sánchez-Arjona** y J.L. Martín Polo*
*Centro de Investigación del Toro de Lidia. Cordel de Merinas s/n. 37008 Salamanca
**Universidad de Salamanca. Facultad de CC. Agrarias y Ambientales.
Filiberto Villalobos 119. 37007 Salamanca.

INTRODUCCIÓN

Una de las características diferenciales de la ganadería de lidia es la extensa duración del ciclo productivo. Los animales permanecen durante tres o cuatro años en la explotación hasta que están preparados para su venta, según se lidien de utreros o de cuatreños.

La alimentación varía en gran medida dependiendo de la edad y el sexo del animal. Así, mientras que las reproductoras se alimentan básicamente de pasto y forraje, los animales destinados a la lidia reciben en la edad más joven (añojos y erales) una alimentación rica en fibra que les permite un mejor desarrollo corporal. Sin embargo, durante el periodo final (8 a 10 meses, a partir del mes de agosto por término medio) reciben una alimentación intensiva basada en concentrados, paja y algo de hierba. En este periodo, los toros alcanzan el peso y la presentación adecuados para su lidia.

El objetivo del trabajo es determinar las características de esta alimentación, contrastándolas con las necesidades de los animales en el medio natural en que se encuentran.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han tomado muestras de la oferta alimenticia (piensos y paja) en 11 ganaderías de vacuno de lidia en la provincia de Salamanca. Se ha calculado el número de toros por hectárea, y se han estimado el peso vivo y el consumo de pienso y paja de los toros a lo largo de este periodo.

Las determinaciones analíticas realizadas para estimar el valor nutritivo de la oferta son las siguientes: contenido en materia seca (MS), en estufa de aire forzado durante 48 h a 60ºC, y materia seca a humedad constante a 105ºC durante 24 h; materia orgánica (MO), por incineración a 550ºC durante 4h; energía bruta (EB), en calorímetro adiabático marca Parr; proteína bruta (PB), como N Kjeldahl x 6.25; fibra bruta (FB), según el método de Weende; fibra ácido y neutro detergente (FAD y FND) según Van Soest; lignina, a partir de FAD con sulfúrico; extracto etéreo (EE) mediante el método Soxhlet..

Para el estudio la valoración *in vivo* se utilizaron ovejas en número de tres por muestra con periodo de adaptación de diez días y control de cinco, donde se determinaron coeficientes de digestibilidad aparentes de la materia seca, materia orgánica, proteína bruta y energía bruta. La energía metabolizable (EM) se estimó como 0.82 x energía digestible (Heany, 1982).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las materias primas más utilizadas en los piensos de los toros son cereales (cebada, maíz y avena) y torta de soja. También se utiliza grasa como aporte

energético suplementario, así como yeros y habas, materias primas tradicionales en las raciones de los toros de lidia. Se incluye un corrector vitamínico-mineral completo, y en la mayoría de los casos un antiácido para el control del pH ruminal. La proprción media de cereales en la ración es del 66%, y la de soja de un 12,6%, que oscila entre el 10 y el 15%, cuando es sustituida en parte por habas o yeros. En general estos piensos son formulados y comercializados específicamente para el ganado de lidia, aunque en algún caso concreto, el ganadero hace su pienso. Las características de estos piensos se resumen en la tabla 1.

Tabla 1: Valor nutritivo de la oferta de pienso

Característica	Valor
Materia seca	92,2 ± 2,7 %
Cenizas	3,7 ± 0,7 %
Proteína bruta	155 ± 15 g/kgMS
Proteína digestible	106 ± 14 g/kgMS
Extracto etéreo	2,3 ± 1,0%
Fibra bruta	8,6 ± 1,7%
Fibra neutro detergente	20,8 ± 2,7%
Fibra ácido detergente	11,8 ± 1,8%
Lignina	1,5 ± 0,7%
Energía metabolizable	9,27 MJ/kgMS
Metabolicidad	0,6

Valores sobre materia seca

Este pienso va acompañado con paja a libre disposición, y los toros se encuentran en cercados en los que existe también cierta disponibilidad de hierba, si bien las cargas ganaderas en este periodo son altas; en este caso, la carga media es 3,3 cabezas por hectárea, oscilando entre 1,5 y 5 cabezas por hectárea. Como se observa, se trata de cargas muy altas para la producción pascícola de la zona de dehesa en que se encuentran. No obstante, en primavera el consumo de pienso se reduce, debido a la disponibilidad de hierba.

Según las estimaciones que hemos podido realizar sobre el peso vivo de los animales, los utreros comienzan la preparación para toros como media a primeros de agosto con un peso medio de 375kg (dependiendo de los encastes), para llegar a un máximo en abril o mayo de unos 500 kg (Alvarez y col., 2000). A partir de esta época los ganaderos procuran evitar incrementos excesivos de peso para favorecer la movilidad. Así, durante el periodo de preparación se estima un incremento de peso de 0,5 kg/día. El consumo de pienso evoluciona desde unos 3,5 kg/día al inicio, para alcanzar un máximo de 6,5 kg/día entre enero y marzo y desciende a medida que hay disponibilidad de hierba a 5,5 kg/día en mayo. Se estima que la ingestión de paja por animal y día es de 3 kg.

Para estimar las necesidades de estos animales hemos fijado tres pesos: 400, 450 y 500 kg de peso vivo, que según los datos de campo, corresponden a una ingestión de 5,0, 6,0 y 6,5 kg/d de pienso respectivamente, y 3,0 kg diarios de paja. Según las estimaciones hechas a partir de McDonald y col.(1986) y AFRC (1996), los valores medios resultantes para las necesidades de energía metabolizable (EM) y proteína bruta digestible (PBD) por animal y día son los que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Necesidades energéticas y proteicas de los animales en función del peso (según McDonald y ARFC) y oferta alimenticia

Peso vivo	Necesidades		Oferta	
(kg)	EM (MJ/d)	G PBD	EM (MJ/d)	g PBD
400	64,7	437,5	63,4	495,3
450	70,0	445,0	72,4	592,7
500	75,2	447,0	76,8	641,6

Para un incremento de peso diario de 0,5 kg/d

Por lo tanto, según los resultados de la tabla se puede concluir que las necesidades de energía están cubiertas, mientras que la oferta proteica es excesiva. En este aspecto hay que tener también en cuenta la pequeña ingestión de hierba que pueden tener, con un alto contenido proteico en estas épocas lo que incrementará aún más este exceso. Por el momento, no se ha podido estimar la ingestión de hierba en cada momento, que se analizará en trabajos sucesivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, S.; MORALES, R.; MARTÍN, J.M.; SÁNCHEZ, M.E.; MARTÍN POLO, J.L. (2000), "Estudio del modelo de explotación de las ganaderías de lidia en la provincia de Salamanca", *Salamanca, Revista de Estudios* nº 44, pp. 83-101.

ARFC (1996), *Necesidades enrgéticas y proteicas de los rumiantes*. Zaragoza: Acribia.

HEANY, D.P., (1979). *Seep as pilot animals*. Animal Research Institute. Research Branch. Agriculture Canada. Otawa K 1.A059.

MCDONALD, P.; EDWARDS, R.A.; GREENHALGH, J.F.D. (1986), *Nutrición animal*. Zaragoza: Acribia.

POSIBILIDADES DEL EMPLEO DE BOLOS RUMINALES DE PEQUEÑO TAMAÑO PARA LA IDENTIFICACIÓN ELECTRÓNICA DE CORDEROS DE ENGORDE

Garín D., Caja G., Conill, C.
Producció Animal, Universitat Autònoma Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.
E-mail: Gerardo.Caja@uab.es

INTRODUCCIÓN

La utilización de bolos ruminales para la identificación electrónica (IDE) de rumiantes ha demostrado ser una técnica segura y fiable para obtener una única y persistente identificación individual (Caja et al., 1996; 1999; Fallon y Rogers, 1996). La aplicación de bolos es una tarea sencilla, rápida y con escasos riesgos para la salud y bienestar del animal (Caja et al., 1999; Lambooij et al., 1999). Su retención es elevada (> 99 %) cuando se logra un diseño óptimo de los bolos (Fallon y Rogers, 1996; Caja et al., 1999) y no conlleva riesgo de contaminar la cadena de la carne (Fallon y Rogers, 1996; Lambooij et al., 1999). Sin embargo, los antecedentes han sido generados con bolos de diámetros ≥ 20 mm; no siendo aconsejable su aplicación en ovinos de menos de 25 kg PV (Caja et al., 1999).

Los efectos de la aplicación de bolos ruminales de IDE sobre los rendimientos productivos de corderos en engorde son poco conocidos. Así, Caja et al. (1999) no observaron diferencias significativas en la ganancia de peso de corderos aplicados a partir de los 22 kg, ni en la fertilidad de ovejas de primer parto; aunque describen problemas en la aplicación del bolo para los corderos de pesos inferiores.

El presente trabajo se planteó con el objetivo de estudiar los efectos de dos tipos de minibolos ruminales para IDE sobre los rendimientos productivos, retención en granja y recuperación en matadero de corderos de engorde.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñaron dos bolos cilíndricos de pequeño tamaño en cerámica de alta densidad de acuerdo a la patente de The European Community et al. (1997) para su aplicación oral. Los bolos presentaban una cámara central donde fue fijado un transpondedor HDX pasivo (modelo RI-TPR-RC2B, Tiris, Holanda) de 3.8x32.5 mm y 134.2 kHz de frecuencia de activación según ISO 11785.

Las dimensiones y pesos finales de los bolos fueron:

- Mini (**M**) de 9.3x37.4mm (diámetro x longitud), 5.2 g de peso y 2.15 de peso específico.
- Pequeño (**P**) de 15.0x39.1mm, 20.0 g y 3.08, respectivamente.

Un total de 156 corderos de razas Manchega (n= 97) y Lacaune (n= 59) fueron distribuídos en 21 grupos según: raza, sexo y peso al nacer, así como por edad, peso y condición corporal de sus madres al parto. Los grupos fueron asignados al azar a los tres tratamientos definidos por la aplicación de bolos: M) en la primera semana de vida; P) al destete con peso vivo >12 kg; y C) Control (sin bolo).

Los aplicaciones del bolo M fueron realizadas usando una sonda esofágica que descargaba el bolo en el retículo–rumen; mientras que para el bolo P, se utilizó un aplicador de pistola que descargaba el bolo en la boca a fin de conseguir el tragado voluntario por el animal. La conducta de los corderos fue observada durante las 3 horas posteriores a la aplicación de los bolos.

Los corderos fueron alojados durante la cría (**C**) en el interior del aprisco con libre acceso al amamantamiento en 0-4 semanas y restringidos en la 5ª, seguido por un periodo de transición (**T**) y uno final de engorde (**E**) hasta lograr el peso de matadero

(>23 kg PV). La alimentación se baso en paja y concentrado granulado (17% de Proteína Bruta) *ad libitum* a partir de la segunda semana de vida y hasta el sacrificio.

El incremento de peso y el porcentaje de retención se calculó a partir de pesadas y lecturas semanales, respectivamente. Durante la cría, se estimó la ingestión de leche (**IL**) diaria utilizando la técnica del doble ordeño con oxitocina (Doney et al., 1979) de las ovejas. El primer ordeño se consideró como leche residual (**LR**) y el segundo como la capacidad de producción de leche (**CPL**). La IL por cordero se calculó como: IL = [(CPL x 6) – LR]/ nº de corderos. La ingestión de concentrado se estimó semanalmente por grupo. En matadero, se recuperaron los bolos y se identificó el pre-estómago en que fue localizado. En una muestra de 4 animales de cada tratamiento, al finalizar la cría y el engorde, se estimó el crecimiento volumétrico del conjunto retículo-rumen utilizando moldes de espuma de poliuretano (Garín, 2000).

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza utilizando la versión 6.12 de SAS (1997). Las medias fueron estimadas por LSMeans y la significación de los efectos se declaró a $P<0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aplicación del bolo M no presentó ningún efecto aparente sobre el comportamiento de los corderos. Un 86.4% de los animales fueron aplicados en la primera semana (sem) de vida (6.0 ± 2.2 d) y el 100% fue posible antes de las 2sem de edad. La media de peso a la aplicación fue de 6.4 ± 1.1 kg PV.

Un 100% de los bolos P pudieron ser aplicados antes de las 7sem con una media de 38.5 ± 4.5 d de edad y 14.9 ± 1.8 kg PV. Siete corderos (15.5%) presentaron dificultad para tragar el bolo P en el primer intento, por lo que se realizó su aplicación una semana después.

No se observaron pérdidas para el bolo P durante todo el período de engorde, mientras que con el bolo M comenzaron a partir de 3sem de edad y se mantuvieron hasta las 7sem. Al finalizar el engorde, el porcentaje de retención de los bolos P fue del 100% mientras que para M fue del 59.5% (Tabla 1). El 100% de retención observado en el bolo P confirmaría que los 20g de peso total, junto a un peso específico elevado (>3.3), sería suficiente para su persistencia en los pre-estómagos (Caja et al., 1999; Conill, 1999). Los pesos de 5.2g y 2.15 del bolo M serían insuficientes para lograr el objetivo de la retención permanente.

No se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre tratamientos para el PV final y la ingestión de concentrado siendo las medias (LSM) de los tratamientos: 13.9 kg y 67 g/s; 16.6 kg y 509 g/d; 24.4 kg y 858 g/d para los períodos C; T y E; ni para la ingestión de leche (1436 ml/día). La ausencia de diferencias en la ingestión de leche durante la cría de los corderos del tratamiento M respecto a los C, unido a que dichos valores son similares a los reportados por Gargouri (1997) y Rodríguez (1997), sugiere que la aplicación del bolo M no generó ningún efecto negativo sobre su conducta de amamantamiento y ritmo de crecimiento. Similares conclusiones pueden extraerse para la ingestión de concentrado y el incremento de peso en los períodos posteriores.

La recuperación en matadero de los bolos M y P fue del 98.5 y 100%, respectivamente. En un 83.3% de casos la recuperación del bolo fue en el retículo, sin encontrarse diferencias ($P>0.05$) entre los tratamientos.

El volumen del conjunto retículo-rumen al finalizar el engorde mostró tendencias a la significación ($P<0.12$) entre los tratamientos que deberán ser confirmadas con un mayor número de observaciones.

Se concluye finalmente que la aplicación de minibolos ruminales de IDE no afectó la ingestión de alimentos, el crecimiento corporal y tamaño del conjunto retículo-rumen. La aplicación de bolos ruminales con diámetros <10mm es posible y segura antes de las 2sem de vida. Sin embargo, el actual bolo M no es recomendable para su uso en IDE debido a las elevadas pérdidas. En tanto, el bolo P sería seguro y

persistente en aplicaciones posteriores a las 7sem de edad de los corderos.

Tabla 1.- Datos productivos del crecimiento (LSMeans), retención en granja y recuperación en matadero de minibolos en corderos de engorde.

	Control (C)	Mini (M)	Pequeño (P)	*P*<
Nº de corderos	52	52	52	
Peso vivo (kg):				
Nacimiento	4.58 ± 0.12	4.73 ± 0.12	4.82 ± 0.12	0.350
Cría (0-5ª sem)	13.87 ± 0.23	13.99 ± 0.22	13.75 ± .022	0.156
Transición (5ª-7ª sem)	16.88 ± 0.30	17.03 ± 0.33	15.99 ± 0.30	0.257
Engorde (7ª-final)	24.90 ± 0.30	23.96 ± 0.47	24.41 ± 0.33	0.365
Volumen retículo-rumen (ml)[1]:				
Final de cría	1684 ± 258	1596 ± 258	-	0.817
Final de engorde	7624 ± 427	6208 ± 427	6770 ± 427	0.114
Ingestión por cordero:				
Leche (ml/d)	1393 ± 78	1465 ± 60	1449 ± 59	0.751
Pienso:				
Cría (g/sem)	83 ± 12	70 ± 13	49 ± 13	0.216
Transición (g/d)	522 ± 21	538 ± 23	468 ± 22	0.103
Engorde (g/d)	873 ± 22	848 ± 24	853 ± 23	0.714
Retención de bolos (%)	-	59.5	100	-[2]
Recuperación en matadero (%)				
Total	-	98.5	100	-[2]
Retículo	-	80.0	85.7	0.602

[1]: Medias obtenidas con n = 4 por tratamiento.
[2]: La ausencia de pérdidas para el tratamiento P impide su cálculo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Caja G., Ribó O., Nehring R., Conill C., Prió P. 1996. In: EAAP Pub. No. 87, Wageningen Pers. p. 355-358.

Caja G., Conill C., Nehring R., Ribó O. 1999. *Comp. Elec. Agric.*, 24: 45-63.

Conill C. 1999. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona. 176 pp.

Doney J.M., Peart J.N., Smith W.F., Louda F. 1979. *J. Agric. Sci., Camb.*, 92:123-132.

Fallon R.J., Rogers P.A.M. 1996. *Farm & Food Research*, 6: 7-9

Gargouri A. 1997. Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona. 174 pp.

Garin, D. 2000. Tesis Master, Universidad Autónoma de Barcelona. 69 pp.

Lambooij E., Van't Klooster C.E., Rossing W., Smits A.C., Pieterse C. 1999. *Comp. Elec. Agric.*, 24: 81-90.

Rodríguez-Garcia M. 1997. Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia. 268 pp.

SAS 1997. SAS/STAT user's guide: statistics. Versión 6.12. SAS Institute, Carry, NC

The European Community, Caja G., Vilaseca J.F., Korn C. 1997. Patent WO 98/01025. PCT/FR97/00744.

EFECTO DE LA EDAD SOBRE LA DIGESTIBILIDAD ILEAL DE LOS AMINOÁCIDOS EN CERDOS

David Torrallardona, Serena Pujol, Lluis Llauradó y Joaquim Brufau
IRTA, Dep. Nutrició Animal, Centre de Mas Bové, Apartat 415, 43280 Reus

INTRODUCCIÓN

Para la determinación de la digestibilidad ileal de los aminoácidos de las materias primas para cerdos se utilizan animales a los que se les practica una anastomosis ileo-rectal a los 25-30 Kg. Dichos animales son utilizados para evaluar diferentes ingredientes en periodos de una semana hasta que alcanzan un peso de unos 90 Kg, (o incluso más). Existe poca información sobre cuál puede ser el efecto del tiempo transcurrido desde la intervención quirúrgica sobre los valores de digestibilidad.

El presente ensayo se realizó para determinar dicho efecto (equivalente a diferencias de edad o peso de los cerdos) sobre la digestibilidad ileal de los aminoácidos de diferentes materias primas. Para ello se utilizaron cuatro materias primas cuya digestibilidad ileal fue determinada, con animales de 46 Kg, en un ensayo anterior (Torrallardona et al. 1997), y se determinó su digestibilidad de nuevo con animales de 75 Kg.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 cerdos de 75 Kg modificados quirúrgicamente (a los 30 Kg) con una anastomosis ileo-rectal (AIR) de acuerdo al método descrito por Picard et al., (1984) y Laplace et al., (1989). Los animales se alojaron en jaulas de metabolismo para la recogida cuantitativa de jugos digestivos.

A los 4 cerdos se les ofrecieron 4 dietas experimentales (correspondientes a las 4 materias primas estudiadas) en 4 periodos experimentales de acuerdo a un diseño cruzado. En un periodo adicional se ofreció a todos los animales una dieta sin proteína para la determinar las pérdidas endógenas de aminoácidos.

Los procedimientos experimentales utilizados fueron idénticos a los descritos con anterioridad (Torrallardona et al. 1997).

Las dietas experimentales correspondientes a cebada y trigo se prepararon utilizando un 94.5% de la materia prima a estudiar y un 5.5% de corrector vitamínico mineral. En el caso de soja y girasol, antes de añadir el corrector, se añadió a la materia prima molturada, la cantidad necesaria de una mezcla 50:50 de azúcar:almidón para conseguir aproximadamente un 17% de proteína. Las materias primas se molieron a través de un tamiz de 2mm. La dieta sin proteína estaba formada por almidón (58%), azúcar (30%), celulosa (3.5%), aceite vegetal (3%) y corrector vitamínico mineral (5.5%).

Cada periodo experimental consistió de 7 días; 5 días de adaptación a la dieta seguidos de dos días de recogida continua de digesta ileal. El contenido digestivo ileal se refrigeraba dos veces al día y al completar cada período se analizó su contenido en materia seca y aminoácidos. La digestibilidad ileal aparente se calculó a partir de los análisis del pienso y de la digesta. La digestibilidad ileal estandarizada se obtuvo a partir de las pérdidas endógenas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La digestibilidad ileal aparente de los aminoácidos determinada con animales de 75 Kg fue más baja que la determinada con animales de 46 Kg (**Figura 1**), especialmente para cebada, trigo y girasol. Los valores para la soja, sin embargo, no fueron diferentes entre los dos tipos de animales. La corrección de los valores de digestibilidad por las pérdidas endógenas no específicas, no afectó las diferencias observadas.

La disminución de la digestibilidad con animales de mayor edad puede ser debida a una adaptación del íleon terminal para reemplazar la pérdida del intestino grueso de los animales con anastomosis ileo-rectal, con la correspondiente colonización microbiana. El aumento de la actividad microbiana, incrementaría la excreción de aminoácidos endógenos y reduciría los valores de digestibilidad. Las diferencias entre materias primas podrían explicarse por el contenido de fibra fermentescible de la dieta. El contenido en fibra neutro detergente (FND) de las dietas de cebada, trigo, soja y girasol era de 10.9, 14.6, 5.1 y 13.6 % respectivamente.

Mosenthin (1984) observó una disminución de la digestibilidad fecal aparente de la proteína al añadir FND a la dieta debida a un mayor crecimiento microbiano.

De los resultados obtenidos se puede concluir que el tiempo transcurrido desde la intervención quirúrgica puede afectar a la determinación de digestibilidad ileal con cerdos AIR, y que dicho efecto es quizá dependiente de la composición de la dieta a evaluar. Estudios adicionales deberían realizarse para estudiar la validez de los valores obtenidos con cerdos en crecimiento para animales reproductores.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo realizado con el apoyo económico del INIA (proyecto SC96-025). S. Pujol es recipiente de una beca CIRIT.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

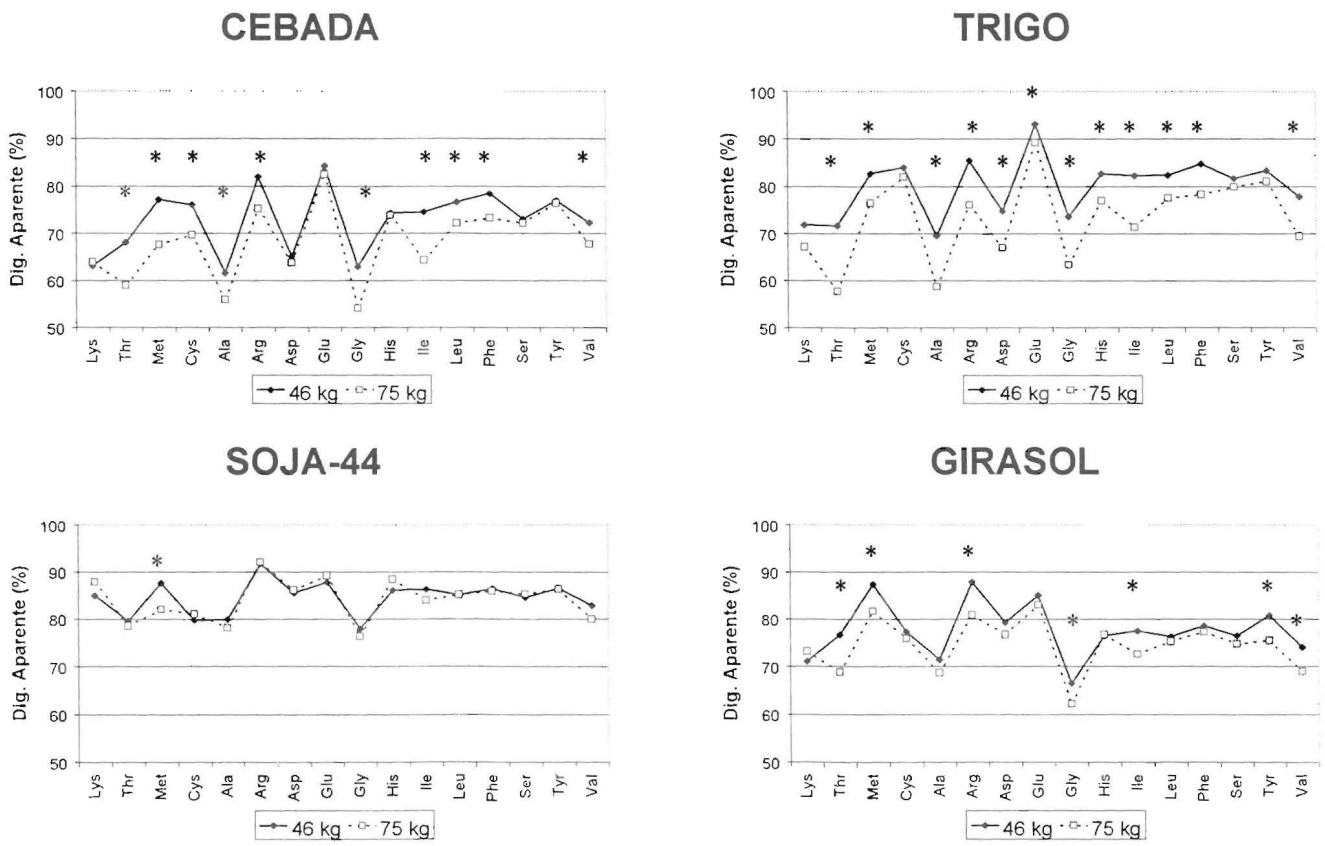
Laplace, J.P., Darcy Vrillon, B., Perez, J.M., Henry, Y., Giger, S. & Sauvant, D. 1989. Associative effects between two fibre sources on ileal and overall digestibilities of amino acids energy and cell-wall components in growing pigs. Br. J. Nutr. 61: 75-87.

Picard, M., Bertrand, S.L., Genin, F. & Maillard, M. 1984. Digestibilité des acides aminés: Intérêt de la technique du shunt iléo-rectal chez le porc. Journees Rech. Porcine en France 16: 355-360.

Torrallardona, D., van Cauwenberghe, S., and Gatel, F. (1997) Protein and amino acid ileal digestibility measured by two different techniques. In: *Digestive Physiology in Pigs*. EAAP Publication no. 88, 413-416. Edited by Laplace, J.P., Fevrier, C., and Barbeau, A., Saint Malo, France, INRA.

Mosenthin, R. (1984) Blood urea as a source of nitrogen for bacteria in the intestine of the pig. *Proceedings of the VI International Symposium on Amino Acids*. : 396-400. Edited by: T. Zebrowska, L. Buraczewska, S. Buraczewski, J. Kowalczyk and B. Pastuszewska. Warszawa, Polish Scientific Publishers.

Figura 1. Digestibilidad ileal aparente de aminoácidos (%) determinada con cerdos de diferente peso vivo.



* P<0.05

CARACTERÍSTICAS DE LA FERMENTACIÓN EN EL INTESTINO GRUESO DE CERDOS LANDRACE E IBÉRICOS ALIMENTADOS CON RACIONES BASADAS EN MAÍZ O SORGO Y BELLOTA

J. Morales[1], J.F. Pérez[1], M. Fondevila[2], D. Martínez-Puig[1] y M.D. Baucells[1]
[1] *Dept. Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193.*
[2] *Dept. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, 50013.*

INTRODUCCIÓN

En el ganado porcino la fermentación en su intestino posterior permite digerir los substratos que escapan de la digestión y absorción en el intestino delgado. La absorción de los ácidos grasos volátiles (AGV) resultantes puede proporcionar entre un 10 y un 30% de la energía digestible (Bergman, 1990). Entre los carbohidratos fermentados en el intestino grueso destacan los almidones resistentes y los polisacáridos no amiloideos (PNA). La presencia de estos substratos en los diferentes segmentos del intestino grueso determina el crecimiento de una flora bacteriana activa capaz de hidrolizar la mayor parte de sus componentes (Bach Knudsen y col., 1993). Sin embargo, la extensión y eficiencia de esta fermentación puede estar condicionada por los diferentes alimentos ingeridos por distintos tipos de cerdos. Por ejemplo, la alimentación del cerdo blanco intensivo y el cerdo ibérico en montanera, podrían sugerir una especial adaptación de las razas rústicas a la fermentación de residuos eminentemente fibrosos.

El objetivo del presente ensayo fue valorar diferentes parámetros descriptivos de la fermentación posterior en cerdos Landrace e Ibéricos alimentados a voluntad con dos dietas que diferían en el origen de sus carbohidratos, proporcionados por maiz o por sorgo y bellota.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se desarrolló en las granjas experimentales de la UAB. Se utilizaron 24 cerdos machos castrados (12 Landrace y 12 Ibéricos) con un peso inicial de 88,4 ± 6,4 kg, que fueron distribuidos en 8 lotes de 3 cerdos cada uno. Se administraron dos dietas experimentales ofrecidas *ad libitum*, una basada en maíz (pienso M: 75,0% maíz; 19,7% soja; 1,2% aceite de oliva y 1,5% cascarilla bellota) y otra que incluía una cantidad apreciable de sorgo y bellota (pienso S/B: 37,2% maíz; 27,5% sorgo; 12,5% bellota; 19,5 soja y 0,7% aceite soja). Ambos piensos incluyeron un 0,15% de Cr_2O_3 como marcador inerte e indigestible con objeto de estudiar la desaparición progresiva de materia orgánica (MO) en el tracto digestivo (MO/Cr). El diseño resultante fue un diseño factorial, 2 razas x 2 dietas.

Ambas dietas experimentales, formuladas para ser isoenergéticas (3330 kcal ED/kg) e isoproteicas (17% PB), difirieron sin embargo en la cantidad y características de su fracción de carbohidratos, que constituía un 69,0 y 63,9% MS^{-1} en la ración M y S/B, respectivamente. Los carbohidratos presentes en la ración S/B presentaron un mayor porcentaje de PNA y almidón resistente (Tabla 1).

Tabla 1 - Características de composición (%) de la fracción de polisacáridos de ambas raciones experimentales.

	Dieta M	Dieta S/B
PNA	18,66	19,63
Almidón no resistente	65,83	63,78
Almidón resistente	15,51	16,59

Cuando los animales alcanzaron un peso vivo final de 107,0 ± 9,0 kg fueron sacrificados, dejando transcurrir el mínimo tiempo posible desde su última ingestión de alimento. Tras el sacrificio se procedió a la recogida inmediata de muestra de digesta cecal que fue congelada en N_2 líquido y mantenida a –80ºC hasta la determinación de la actividad enzimática microbiana. Se recogieron también muestras de la digesta en íleon, ciego, colon y recto para el análisis del contenido en materia seca (MS), MO, cromo, carbohidratos y AGV.

Los datos fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento GLM del SAS (1994).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el intervalo de pesos estudiado, los cerdos Ibéricos mostraron un consumo de pienso superior a los cerdos Landrace (3,93 *vs.* 3,03 kg MS/d, $P<0,01$), no observándose diferencias asociadas a las raciones experimentales (Morales y col., 2000). Considerando los valores de digestibilidad ileal, se observaron diferencias notables en el flujo de carbohidratos que alcanzó el tracto digestivo posterior entre razas ($P<0,01$) y dietas ($P<0,10$); Los valores fueron 252 y 532 g/d en Landrace y 428 y 619 g/d en Ibéricos alimentados con las dietas M y S/B, respectivamente.

Las notables diferencias en la cantidad de sustrato que alcanzó el tracto digestivo posterior proporcionan un modelo sobre el que valorar la actividad y características fermentativas de ambas razas. En la Tabla 2 se presenta la actividad del extracto enzimático cecal frente a distintos carbohidratos. Con independencia de la dieta administrada, los cerdos Ibéricos presentaron una mayor actividad enzimática microbiana que los Landrace. Entre raciones experimentales no se observaron diferencias significativas salvo en el caso de la actividad amilopectinasa, en la que los cerdos Ibéricos alimentados con la ración S/B presentaron una marcada mayor actividad (P interacción < 0,05).

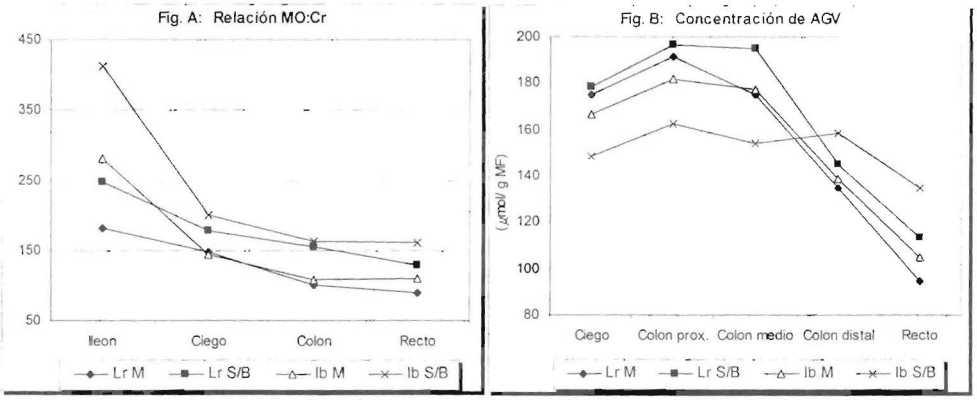
Tabla 2 - Actividad enzimática total del extracto cecal (UE / g MS) de cerdos Landrace e Ibéricos alimentados con las dietas de maíz (M) y sorgo y bellota (S/B)

	LANDRACE		IBÉRICOS		Error	*P*		
substrato	M	S/B	M	S/B	std.	Raza	Dieta	Interac.
Celulosa	0,290	0,142	0,395	0,344	*0,065*	*	*N.S.*	*N.S.*
Xilano	0,703	0,588	0,896	1,165	*0,155*	*	*N.S.*	*N.S.*
Amilosa	0,635	0,583	1,077	1,207	*0,254*	*	*N.S.*	*N.S.*
Amilopectina	0,193	0,247	0,265	1,052	*0,197*	*	*	*

La actividad microbiana descrita condicionó el ritmo de la desaparición de la MO a lo largo del tracto digestivo posterior (MO/Cr; Figura 1A), así como la liberación de AGV al medio (Figura 1B).

Los mayores descensos de MO (MO/Cr) fueron observados en el compartimento digestivo del ciego, reduciéndose de forma notable el ritmo de descenso en colon y recto. Por lo tanto, la fermentación cecal contribuye de una forma mayoritaria a la fermentación del tracto digestivo posterior, posiblemente asociado a unas condiciones más adecuadas (%MS en ciego 12,3%, en colon intermedio 22,0% y en recto 30,8%).

Figura 1 - Ritmo de desaparición de MO (Fig. A) y evolución de la concentración de AGV (Fig. B) a lo largo del tracto digestivo posterior de los cerdos Landrace (Lr) e Ibéricos (Ib) alimentados con dietas de maíz (M) y sorgo-bellota (S/B).



La concentración de AGV presentó una evolución consecuente con la desaparición de MO en tres de los tratamientos experimentales, mostrando los valores más elevados en ciego y colon proximal y medio, y descendiendo progresivamente hasta alcanzar el recto. Sin embargo, los Ibéricos alimentados con S/B mostraron una concentración relativamente estable a lo largo del tracto digestivo posterior, lo que refleja la llegada de una cantidad significativa de sustrato sin fermentar a las heces (digestibilidad de la MO 0,81 en Ibéricos S/B frente 0,85-0,86 en Landrace e Ibéricos M; Morales y col., 2000).

Por lo tanto, los resultados reflejan diferencias intrínsecas entre razas en las características de degradación. Los Ibéricos mostraron un mayor potencial enzimático por gramo de digesta, posiblemente asociado a la selección específica de las poblaciones bacterianas. Sin embargo, estas diferencias no permitieron compensar las variaciones observadas en la digestibilidad en intestino delgado, fundamentalmente en la ración S/B. En conclusión, se observaron diferencias notables en la digestibilidad ileal y fermentación posterior entre dietas, a pesar de no observarse diferencias analíticas reseñables entre ellas; lo que pone en evidencia la complejidad estructural de los carbohidratos y las limitaciones de las técnicas analíticas actuales en su caracterización.

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del Proyecto CYCIT AGF98-0506

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bach Knudsen, K.E., Jensen, B.B. y Hansen, I., 1993. Oat bran but not a-glucan-enriched oat fraction enhances butyrate production in the large intestine of pigs. *J. Nutr.*, 123: 1235-1247.

Bergman, E.N., 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological reviews,* 70: 567-590.

Morales, J., Pérez, J.F., Baucells, M.D., Gasa A. y Gasa J, 2000. Comparative digestibility and productive performances between Landrace and Iberian pigs fed on a corn- or a sorghum-acorn-based diet. *8th Symposium on Digestive Physiology in Pigs*, Uppsala, Suecia, 2000.

SAS Institute, 1994. SAS® User's Guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC.

LOS EXTRACTOS DE PLANTAS MODIFICAN LA FLORA MICROBIANA DEL INTESTINO DELGADO 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 y otros promotores del crecimiento en la alimentación de lechones, las empresas del sector ganadero buscan con ahínco alternativas que permitan mantener los niveles de producción sin asistir a un empeoramiento del estado sanitario del ganado.

Además de la revalorización de aditivos clásicos como los acidificantes, enzimas, probióticos o prebióticos, una de las opciones propuestas 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, ya sean como estimulantes de la digestión y el apetito o dotadas de poder antiséptico o antioxidante (Cowan, 1999) así como de estudios realizados con digestores artificiales "in vitro" (Kamel, 1999). Sin embargo los experimentos realizados "in vivo" son muy escasos, en especial en porcino.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de incorporar una mezcla de extractos de plantas (**XTRACT®**) a raciones de lechones destetados precozmente sobre las poblaciones microbianas del intestino y los rendimientos productivos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevo a cabo en una granja experimental de ambiente controlado donde se alojaron 240 lechones cruzados ((Ld x Lw) x P) recién destetados (20±2 ds) con un peso inicial de 5.4±0.4Kg y seleccionados de un total de 500.

Se utilizó un diseño factorial 3x2 en el que los factores principales eran el tipo de ración y la suplementación o no con 200 ppm de **XTRACT®**. Se formularon tres raciones que diferían en el nivel de proteína y en el tipo de ingredientes usados para obtener este nivel de proteína. La primera dieta (dieta óptima, DO) con un 18% de PB incluía harina de pescado mientras que en las otras dos dietas (dietas de riesgo, DR1 y DR2) se sustituyó parte de la harina de pescado con un 9 y un 6% de soja respectivamente, con lo que se obtuvieron niveles de 18% de PB para DR1 y 20% para DR2. Las tres raciones incluían además un 42% de cereales y un 25% de derivados lácteos. No se utilizó ningún tipo de medicación ni aditivo acidificante, probiótico o promotor en la fabricación de los piensos. Se añadió un 0.15 % de óxido crómico como marcador de digestibilidad.

Los animales fueron distribuidos en 4 replicas de 10 lechones en cada tratamiento. La distribución se hizo al azar procurando que las réplicas tuviesen pesos homogéneos al inicio del experimento.

El experimento tuvo una duración de 21 días. El día 14 de experimento se controló el peso vivo y el consumo diario de pienso (CMD) de las réplicas para

conocer la ganancia media diaria (GMD) y el índice de conversión (IC); y se recogieron muestras de heces frescas por cada réplica con objeto de determinar la digestibilidad de los piensos. Entre los días 15 y 21 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 19, 20 y 21 fueron sacrificados un total de 8 lechones representativos de cada tratamiento (48 animales en total). Los sacrificios se realizaron a partir de las 14:00 hs. Tras el sacrificio se tomaron muestras de yeyuno para llevar a cabo los recuentos microbianos. Estos 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 sometieron a un ANOVA utilizando el SAS (1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se registraron interacciones entre el tipo de pienso y la inclusión o no de **XTRACT®** en ninguno de los parámetros registrados por lo que presentamos los resultados por efectos principales. La suplementación con **XTRACT®** no modificó los parámetros productivos (CMD, GMD e IC) de los lechones durante los 14 días posteriores al destete (tabla 1). Tampoco se observan efectos significativos asociados al tipo de pienso si bien el pienso DO presento un peor índice de conversión ($p<0.01$). La ausencia de diferencias podría reflejar el numero limitado de réplicas si bien también podría estar condicionada por las buenas condiciones ambientales en que se desarrollo el experimento.

TABLA 1.Peso vivo (PV,Kg), consumo medio diario (CMD,g/d), ganancia media diaria (GMD,g/d) e índice de conversión (IC,g/g) de lo lechones durante el periodo del día 0 al día 14 del experimento.

	DO		DR1		DR2		RSD	Nivel de significación	
	-	+	-	+	-	+		XT	DIET
PV inicial	5.35	5.38	5.38	5.43	5.40	5.40	0.187	0.73	0.89
PV final	7.78	7.83	7.98	8.04	7.93	7.85	0.562	0.96	0.79
CMD	249.1	270.9	249.6	240.7	230.2	233.9	35.57	0.72	0.32
GMD	173.6	175.0	185.7	185.7	180.1	175.0	29.88	0.93	0.75
IC	1.43	1.55	1.35	1.30	1.28	1.34	0.103	0.32	0.01

En lo que se refiere a la digestibilidad (tabla 2) tampoco se observan diferencias significativas debidas a la ración base o suplementación con el **XTRACT®**. La tendencia ($p<0.09$) del pienso DR2 a mostrar mayores DPB es consecuencia de su mayor nivel de PB. La menor digestibilidad de la proteína coincide con la dieta DO que a su vez es la que presentó los peores IC.

TABLA 2.Digestibilidad fecal (%) de la materia seca (DMS), de la materia orgánica (DMO) y de la proteína bruta (DPB).

	DO		DR1		DR2		RSD	Nivel de significación	
	-	+	-	+	-	+		XT	DIET
DMS	86.5	86.9	87.0	87.2	87.0	87.2	1.54	0.62	0.84
DMO	88.4	88.9	88.9	89.1	89.0	89.1	1.42	0.59	0.86
DPB	85.5	84.2	86.1	86.2	87.5	87.6	2.25	0.69	0.08

Mientras que el tipo de pienso no afecto ($p>0.10$) los recuentos microbianos, la presencia del **XTRACT®** en el pienso determinó un aumento significativo ($p<0.02$) de lactobacilos en el contenido de yeyuno (tabla 3). Este efecto fue superior con los piensos DO (9.8%) y DR1 (20.3%) que con el DR2 (0.1 %) lo que podría sugerir una relación con el contenido proteico de la dieta. Por otra parte el recuento de enterobacterias, aunque no de forma significativa, tendió a presentar los resultados opuestos de manera que la presencia de **XTRACT®** produjo valores inferiores con el pienso DO (3.3%) y DR1 (7.4%) mientras que lo mantuvo prácticamente constante con el pienso de alta proteína (DR2).

TABLA 3.Recuentos microbianos. * (días 18 al 20 del experimento).

	DO		DR1		DR2		RSD	Nivel de significación	
	-	+	-	+	-	+		XT	DIET
Enterobact.	6.42	6.21	6.50	6.02	6.63	6.65	1.094	0.51	0.59
Lactobacillus	5.83	6.40	5.27	6.34	5.98	6.03	0.767	0.02	0.54

* Recuentos expresados como Log_{10} UFC/g en materia fresca (yeyuno).

En conclusión, a pesar de no obtener efectos significativos sobre los resultados productivos, la adición de **XTRACT®** a los piensos de lechones recién destetados, aumenta significativamente el recuento de lactobacilos y reduce, numéricamente, el de enterobacterias. Resultará interesante conocer si esta modificación microbiológica permite a los animales mejorar su estabilidad digestiva y si afectaría a los resultados productivos a más largo plazo o en condiciones de mayor estrés ambiental.

Agradecimientos a la empresa AXISS – Pancosma S.A. por el apoyo financiero del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cowan, MM. 1999. Plant products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Revews. 4: 564-582.
Kamel, C. 1999. Novel tool to test new feed additives. Feed international. 22-26.
Mellor, S.2000. Alternatives to antibiotics. Feed mix, special 2000. 6-8.

ESTIMACIÓN DE LA FERMENTACIÓN CECAL EN CERDOS IBÉRICOS O LANDRACE ALIMENTADOS CON DIETAS BASADAS EN BELLOTA O MAÍZ MEDIANTE PRODUCCIÓN DE GAS *IN VITRO*

M. Fondevila, J. Morales[1], J.F. Pérez[1], M.D. Baucells[1] y J. Gasa[1]
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos
Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza
[1]Departament de Ciència Animal y dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra 08193, Barcelona

INTRODUCCIÓN

La producción semi-extensiva de porcino en la Península Ibérica se basa en la alimentación del cerdo Ibérico con pastos y bellotas, aunque en la actualidad se emplean también suplementos concentrados. Parece claro que la raza del animal es un factor fundamental que confiere la calidad al producto, pero tanto el sistema de producción como las características de la dieta y su utilización digestiva contribuyen de forma significativa a variar dicha calidad. A pesar de ser un animal monogástrico, el sistema de producción del cerdo Ibérico revela la importancia nutritiva de la fermentación digestiva en la utilización de los nutrientes, que en porcino supone entre el 10 y el 30 % de las necesidades energéticas de mantenimiento (Hume, 1997).

Este trabajo estudia la fermentación microbiana de dietas basadas en bellota/sorgo (BS) o maíz (MZ) en cerdos Ibéricos (IB) o Landrace (LD), para evaluar la importancia de la raza y la dieta en la fermentación cecal. El estudio se realizó mediante la técnica de producción de gas *in vitro* (Theodorou y col., 1994), empleada habitualmente en la valoración de alimentos para rumiantes, que fue adaptada a las condiciones de fermentación cecal mediante la utilización de contenido ileal como sustrato y contenido cecal como inóculo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 12 cerdos IB y 12 Landrace LD de 108 ± 4.6 kg. Los animales de cada raza fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos, a los que se ofrecieron las dietas experimentales, BS (20 % maíz, 20 % sorgo, 40 % bellota) o MZ (74 % maíz), en un diseño factorial 2 x 2. Una vez alcanzados los 133 kg, 4 animales por grupo fueron sacrificados y su contenido ileal colectado, agrupado por tratamiento experimental y liofilizado. Tres días después, los otros 2 animales de cada grupo fueron sacrificados, recogiéndose su contenido cecal, que fue agrupado por tratamientos, refrigerado y trasladado a la Facultad de Veterinaria de Zaragoza para su uso como inóculo (unas 4 h después de su colección).

La evolución de la fermentación microbiana se determinó *in vitro* a partir de la producción de gas. Se pesaron 650 mg de sustrato ileal en botellas de 125 ml (n=4), que fueron llenadas en atmósfera de CO_2 con 100 ml de solución de incubación (pH 6,8) con un 14 % de contenido cecal correspondiente al mismo tratamiento experimental. Se incluyeron además 3 botellas sin inóculo cecal en la solución de incubación. La incubación se desarrolló a 39 °C, registrándose por presión el gas producido a las 4, 8, 12, 18, 24, 36, 48 y 60 h. Al final del periodo de incubación, se

determinó la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV; Jouany, 1982), y la desaparición de MS por filtración (40 μm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre razas, la producción de gas in vitro (Figura 1) únicamente mostró diferencias ($P<0,001$) a las 4 h de incubación, a favor de IB. Entre dietas, BS produjo más gas que MZ durante todo el periodo de incubación ($P<0,001$), estableciendose las diferencias en las primeras 12h. A partir de esta hora, las diferencias entre dietas disminuyeron para cada raza, de 17 a 12 ml/g MS en IB y de 13 a 10 ml/g MS en LD, hasta el final de la incubación.

La desaparición de MS (Tabla 1) después de 60 h de fermentación fue mayor en cerdos IB que LD ($P<0,001$), y con la dieta BS que con la MZ ($P<0,001$), si bien este parámetro puede estar condicionado por la elevada solubilidad inicial del sustrato (585 y 599 mg/g para BS y MZ). La concentración total de AGV fue superior con la dieta MZ en cerdos IB, mientras que en LD ocurrió lo contrario, reflejando básicamente las variaciones en la concentración de acetato (interaccion raza x dieta: $P<0,01$). Las concentraciones medias de propionato ($P<0,05$) y butirato ($P<0,01$) fueron superiores en LD que en IB, y entre dietas la de propionato fue inferior ($P<0,10$) y la de butirato superior ($P<0,001$) en BS respecto a MZ, no observándose significación en la interacción.

Estos resultados indican que la dieta afecta los parámetros cecales *in vitro* más que la raza, aunque es la interacción entre ambos factores la que determina el tipo de fermentación. Considerando el mayor ritmo de tránsito de la digesta en los cerdos IB (Morales y col., 2000), sería esperable una mayor llegada de nutrientes en éstos, provocando una mayor fermentación cecal. Sin embargo, la falta de diferencias entre razas parece indicar que la fermentación potencial en el ciego depende más de la composición del sustrato (dependiente de la dieta) que de su cantidad, así como del tiempo de retención de la digesta en el ciego. Entre dietas, es esperable que MZ aporte menos almidón y más fibra que BS, debido a una mayor absorción en el intestino delgado, lo que justifica tanto la menor producción de gas en ambas razas como la menor producción total de AGV y de butirato en LD y la mayor concentración de acetato y menor de butirato en IB. Por contra, la mayor concentración total de AGV en IB con MZ se contradice con su menor producción de gas. En esta raza, la relación entre el menor aporte de nutrientes al ciego con MZ y el mayor efecto del alto ritmo de tránsito sobre la composición del sustrato fermentable con esta dieta explicaría en parte dichos resultados.

El presente trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto CICYT AGF98-0506

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hume, I.D. (1997). En: Gastrointestinal microbiology, vol. 1. R.I. Mackie y B.A. White (eds.), Chapman & Hall Microbiology series, New York. pp. 84-115.

Jouany, J.P. (1982). Science des Aliments 2: 131-144.

Morales, J. Perez, J.F., Baucells, M.D. y Gasa, J. (2000). Journal of Animal Science, 78, suppl. 1:179

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. y France, J. (1994). Animal Feed Science and Technology, 48: 185-197

Figura 1: Producción de gas *in vitro* de contenido ileal de cerdos ibéricos (● , ■) o Landrace (○ , □) alimentados con dietas a base de bellota/sorgo (círculos) o maíz (cuadrados), con contenido cecal como inóculo. Las barras inferiores muestran el error estándar de las medias.

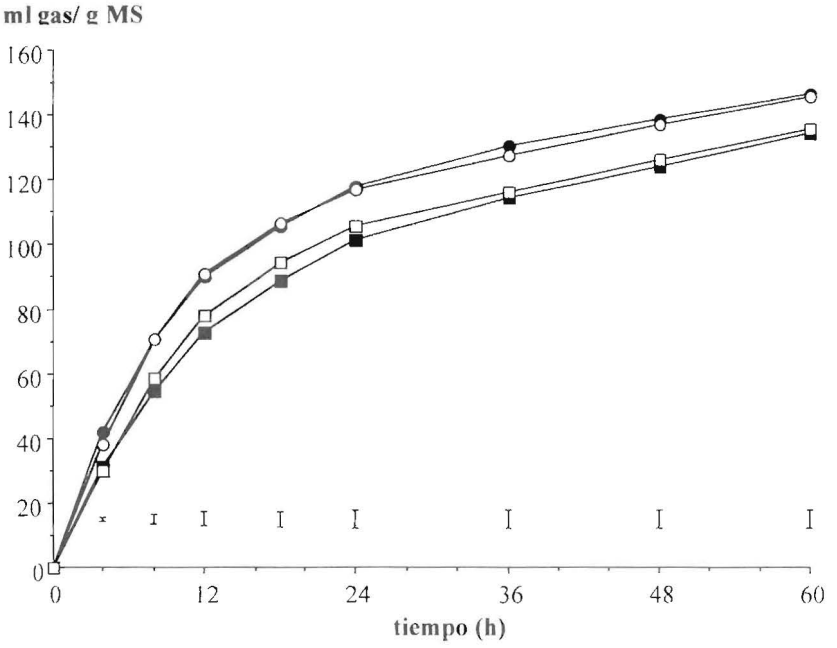


Tabla 3: Desaparición de materia seca (dMS, mg/g), y concentración total e individual de ácidos grasos volátiles (mmol/l) tras 60 h de incubación. En cada fila, letras diferentes indican diferencias significativas (P<0,05).

	Ibéricos		Landrace		
	Dieta BS	Dieta MZ	Dieta BS	Dieta MZ	e.e.
dMS	847 a	751 b	777 b	711 c	1,04
AGV totales	32,0 b	37,4 a	36,9 a	34,1 b	1,46
acetato	18,5 c	23,6 a	21,7 ab	20,0 b	0,94
propionato	7,7 b	8,6 a	8,7 a	8,9 a	0,26
butirato	4,2 b	3,3 c	5,0 a	3,6 c	0,14
isobutirato	0,43 ab	0,53 a	0,35 b	0,35 b	0,051
isovalerato	0,52 b	0,70 a	0,65 ab	0,77 a	0,054
valerato	0,69 a	0,77 a	0,51 b	0,54 b	0,046

e.e.: error estándar de las medias

EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE DIFERENTES COMBINACIONES DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN DIETAS PARA CERDOS EN TRANSICIÓN SOBRE SUS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y DISTINTOS PARÁMETROS DIGESTIVOS

M. Fondevila, S. Rubio, A. de Vega y C. Moreno
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos
[1] Departamento de Anatomía, Embriología y Genética
Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

Los acidificantes son utilizados habitualmente en dietas postdestete para ganado porcino, mejorando la respuesta productiva y la digestibilidad de la dieta (Falkowsky y Aherne, 1984; Eckel y col., 1992), aunque en algunos casos esta mejora no es significativa (Partanen y Mroz, 1999). Inicialmente, este efecto se atribuyó a un descenso del pH gástrico, previniendo la disbiosis de la población microbiana intestinal. Sin embargo, Risley y col. (1992) no observaron relación entre crecimientos y pH. Otros mecanismos implicados en la respuesta pudieran ser la reducción de la desaminación de aminoácidos en el estómago (Eidelsburger, 1998) y la estimulación de la secreción pancreática (Partanen y Mroz, 1999), con el consiguiente aumento de la digestibilidad de la dieta. En la práctica, en contra de lo aplicado experimentalmente, se emplean distintas combinaciones de ácidos para asociar sus ventajas específicas, por lo que es difícil determinar qué ácidos provocan una mayor respuesta. Además, la dosis experimental suele estar por encima de lo económicamente viable en la práctica.

Este trabajo intenta definir, a partir de las combinaciones de ácidos orgánicos propuestas, cual promueve la mayor respuesta en producción y digestibilidad en dietas para cerdos en transición, en dosis consideradas como aplicables en condiciones de producción, y estudiar los mecanismos digestivos implicados en el efecto. Este trabajo ha sido financiado por la empresa OZALLA, S.L.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 100 cerdos Pietrain x Dalland, de 19-21 días de edad (6,0 ± 0,34 kg), recién destetados, que fueron repartidos en 20 lotes de pesos medios similares. Cada lote de 5 animales fue alojado en corrales de 1.45 x 1.00 m, provistos de suelo enrejillado de plástico, bebedero y comedero, y la temperatura ambiental se mantuvo alrededor de los 23 °C durante todo el experimento. Cinco lotes se asignaron al azar a cada uno de 4 tratamientos.

Durante las primeras 2 semanas del experimento (fase 0-2), los animales recibieron un pienso de pre-iniciación comercial, y durante las siguientes 4 semanas (fase 3-6) un pienso de iniciación, a los que se añadieron 1,5 g/kg de óxido crómico como marcador de digestibilidad. Diariamente, se pulverizó sobre los piensos 12 ml/kg de una solución al 50 % de los siguientes acidificantes: 25 % láctico + 25 % fórmico + 30 % propiónico (A1); 40 % fórmico + 38 % propiónico + 8 % amoníaco (A2); 30 % láctico + 55 % fórmico (A3); y agua como control (C).

Semanalmente, los lotes de animales fueron pesados y su consumo de pienso registrado. En los días 12 y 13, y 40 y 41 del periodo experimental, un animal de cada lote fue aislado a las 9:00 y 16:00 horas, colectándose heces frescas para la determinación de la digestibilidad aparente de la dieta. En los días 14 y 15 (fase 0-2) y 42 y 43 (fase 3-6), ocho animales de cada tratamiento experimental fueron sacrificados (4 animales por día), tras un periodo de ayuno de 3 horas y previa

anestesia. Se determinó el pH del estómago, primer (ID1), segundo (ID2) y tercer (ID3) tercios de intestino delgado, ciego y colon, y se tomaron muestras de estómago, ID1 e ID3 para determinación de la concentración de amoníaco.

Los resultados se analizaron por ANOVA, considerando tratamientos y fase de crecimiento como factores. Además, la ganancia media diaria (GMD), ingestión e índice de conversión (IC) se analizaron globalmente para todo el periodo experimental, considerando tratamiento como factor y semana como bloque.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La GMD (Tabla 1) fue inferior con A1 que con A2 y A3, tanto en el análisis estadístico por fases ($P<0,10$) como en el global ($P<0,01$), al igual que la ingestión de pienso ($P<0,05$). Sin embargo, las diferencias en el IC no fueron significativas ($P>0,05$). Respecto al control (C), los tratamientos A2 y A3 mejoraron ($P>0,10$) la GMD en un 3-4 % y hasta un 5 % entre 3 y 6 semanas, en un rango similar al observado por Falkowsky y Aherne (1984) y Risley y col. (1991), aunque estos autores emplearon dosis de 10 y 15 g/kg. Aunque no hubo una respuesta significativa ($P>0.10$) en la digestibilidad de la dieta (Tabla 2), los coeficientes observados con C en ambas fases de crecimiento fueron hasta 2.0 (DMS), 2.3 (DMO) y 3.7 (DPB) unidades menores a los tratamientos con acidificantes, respuesta similar a la observada por Eckel y col. (1992).

Los valores medios de pH en los distintos tramos del tracto digestivo figuran en la Tabla 3. No se observaron diferencias entre tratamientos ($P>0,10$) en los valores de pH en ID3 y colon, por lo que no se incluyen en la Tabla. En la fase 0-2, las mezclas A2 y A3 redujeron el pH gástrico en relación a A1 y C ($P<0,001$), alcanzaron valores superiores a 3, aunque entre 3 y 6 semanas todos los pH estuvieron próximos a 2 o inferiores (P interacción$<0,001$). No hubo diferencias ($P>0,10$) de pH entre tratamientos en ID1, mientras que en ID2 las hubo entre A1 y A2 y C ($P<0,01$). La concentración de amoníaco (Tabla 4) en el estómago fue mayor ($P<0,05$) con C que con los otros tratamientos. En ID1, la concentración de amoníaco fue superior ($P<0,01$) en C y A1. No se observaron diferencias entre tratamientos en ID3 ($P>0,10$). La baja concentración de amoníaco en estómago e ID1 con A3, y en menor medida A2, respecto a C indica una menor desaminación de la proteína dietética con estas mezclas de aminoácidos, lo que supone una mayor disponibilidad de aminoácidos en intestino, en consonancia con su mayor DPB.

Los resultados obtenidos indican que la inclusión de acidificantes en las dietas para cerdos en transición no siempre mejora los parámetros digestivos y los rendimientos productivos, siendo en este caso A2, y sobre todo A3, las que provocan mayor respuesta, especialmente en DPB. Dicha respuesta está asociada al descenso de pH gástrico, aunque no se descarta que el efecto sea parcialmente independiente del pH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Eckel, B., Kirschgessner, M. y Roth, F.X. (1992). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 67*: 93-100

Eidelsburger, U. (1998). En: *Recent advances in animal nutrition. (P.C. Garnsworthy y J. Wiseman, eds.), Nottingham University Press, Nottingham, UK.* pp. 93-106

Falkowski, J.F. y Aherne, F.X. (1984). *J. Anim. Sci., 58*: 935-938

Partanen, K.H. y Mroz, Z. (1999). *Nutr. Res. Rev., 12*: 117-145

Risley, C.R., Kornegay, E.T., Lindemann, M.D., Wood, C.M. y Eigel, W.N. (1992). *J. Anim. Sci.*,70:196-206

Tabla 1: Ganancia media diaria (GMD; g/d), ingestión diaria (g MS/d) e índice de conversión (IC) de 0 a 2 y de 3 a 6 semanas tras el destete, además de estos parámetros analizados en todo el periodo (0-6 semanas), con semanas como bloque

	GMD			Ingestión			IC		
	0-2	3-6	0-6	0-2	3-6	0-6	0-2	3-6	0-6[1]
A1	82	460	334	146	618	461	1,85	1,35	1,34
A2	101	532	388	168	733	545	1,74	1,38	1,35
A3	86	530	382	162	685	511	2,02	1,30	1,33
C	104	506	372	155	716	529	1,58	1,42	1,34
r.s.d.	42,0		64,73	48,8		69,88	0,336		0,223

[1] En este análisis, no se consideró la semana 1, por registrarse pérdidas de peso

Tabla 2: Digestibilidad (%) de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO) y proteína bruta (DPB) de 0 a 2 y de 3 a 6 semanas tras el destete, junto con las medias de tratamiento.

	DMS			DMO			DPB		
	0-2	3-6	Med.	0-2	3-6	Med.	0-2	3-6	Med.
A1	71,8	77,6	74,7	74,0	79,8	76,9	69,2	75,6	72,4
A2	71,8	77,7	74,7	74,1	79,9	77,0	68,8	74,6	71,7
A3	71,3	78,2	74,7	74,1	80,6	77,3	69,2	77,2	73,2
C	70,0	76,2	73,1	72,5	78,2	75,3	65,5	73,5	69,5
r.s.d.	2,44			2,43			5,16		

Tabla 3: pH del contenido digestivo de diferentes órganos de 0 a 2 y de 3 a 6 semanas tras el destete.

	Estómago		ID1		ID2		Ciego	
	0-2	3-6	0-2	0-2	3-6	3-6	0-2	3-6
A1	3,89	1,96	6,20	3,89	1,96	5,64	6,63	6,18
A2	1,39	1,64	6,25	1,39	1,64	6,12	6,37	5,83
A3	2,03	2,20	6,17	2,03	2,20	6,11	6,68	5,58
C	3,09	1,24	5,81	3,09	1,24	5,91	6,12	5,84
r.s.d.	0,549		0,322		0,292		0,326	

Tabla 4: Concentración de amoníaco (mg/l) de la digesta en diferentes órganos de 0 a 2 y de 3 a 6 semanas tras el destete, junto con las medias de cada tratamiento.

	Estómago			ID1			ID3		
	0-2	3-6	Med.	0-2	3-6	Med.	0-2	3-6	Med.
A1	49,1	40,8	44,9	42,7	42,5	42,6	4,4	35,4	19,9
A2	55,9	31,1	43,5	20,4	36,8	28,6	3,0	46,1	24,6
A3	37,5	30,4	33,9	17,9	24,9	21,4	0,5	46,2	23,3
C	74,2	51,5	62,8	42,3	43,9	43,1	2,0	26,7	14,4
r.s.d.	17,09			5,35			12,89		

USO DE UN CONCENTRADO DE PROTEÍNA DE PATATA EN DIETAS PARA LECHONES DESTETADOS PRECOZMENTE

M.A. Latorre [1], R. Mors [2], R. Cos [3], P. Medel [1] y G.G. Mateos [1]
[1] Dpto Producción Animal. UPM. C/ Senda del Rey s/n, 28040 Madrid.
[2] AVEBE. Nijverheidsstraat 8, Wildervank P.O. Box 15, 9640 AA Veendam, Holanda.
[3] Andrés Pintaluba S.A. Pol. ind. Agro-Reus. Prudenci Bertrana 5, 43206 Reus.

Introducción

En España, la edad al destete en lechones está en torno a 21 d pero depende del manejo y de las características del pienso de iniciación. Para un destete precoz óptimo se utilizan ingredientes altamente digestibles tales como el suero, el plasma animal, la harina de sangre o la harina de pescado (Kerr et al., 1998). A causa de la reciente prohibición o limitación en el uso de las harinas animales en la alimentación de animales de granja en la Unión Europea, se están buscando alternativas a estas materias primas sin detrimento del rendimiento productivo de los lechones. Un ingrediente susceptible de ser utilizado es la proteína de patata, que se obtiene por termocoagulación a partir de la proteína del jugo sobrante del proceso de extracción del almidón. El producto resultante contiene aproximadamente un 80% de proteína, es rico en lisina y valina y de elevada digestibilidad. Sin embargo, resulta deficitario en metionina e isoleucina (FEDNA, 1999). El concentrado de patata contiene solanina, un alcaloide que le confiere un sabor amargo y disminuye su palatabilidad, además de poder ocasionar problemas digestivos con síntomas similares a la gastroenteritis. La mayor parte de este alcaloide puede ser eliminado mediante un tratamiento correcto en el proceso de obtención del concentrado de proteína de patata.

Material y métodos

Instalaciones experimentales. El ensayo se llevó a cabo en la granja experimental del Departamento de Producción Animal de la U.P. Madrid. Las condiciones ambientales (temperatura y ventilación) fueron controladas automáticamente.

Animales experimentales. Se utilizaron 120 lechones machos cruzados Landrace x Large White, de 17 d de edad y 6 kg de peso vivo, asignados a su tratamiento experimental en base a su camada y peso inicial (bloque).

Dietas experimentales. Se formularon dos dietas: una prestarter (de 0 a 20 postdestete) y una starter (de 20 a 36 d postdestete). Las dietas experimentales prestarter fueron isonutritivas en todos los nutrientes claves. Todos los piensos se presentaron en forma de gránulo de 3,5 mm de diámetro y se suministraron *ad libitum*. Su composición y valor nutritivo se muestran en la tabla 1. La humedad, cenizas totales. proteína bruta, extracto etéreo y fibra bruta fueron analizados según las normas AOAC (1995). El concentrado de proteína de patata utilizado contenía niveles mínimos de alcaloides debido al proceso utilizado y se comercializa de forma diferenciada en base a esta característica.

Diseño experimental. Diseño en bloques completamente al azar con cuatro dietas experimentales durante el periodo prestarter: A) 7,5% harina de pescado LT (LT),

2,5% LT más 4% concentrado de proteína de patata (PP), C) 6% PP y D) harina de pescado normal con 65% PB (HP) más 4% PP. Durante el periodo starter (20 a 36 d postdestete) todos los animales recibieron un pienso común. Cada tratamiento se replicó seis veces y la unidad experimental estuvo constituida por cinco lechones alojados conjuntamente.

Controles. El crecimiento, el consumo de pienso y la conversión alimenticia se analizaron por réplica a los 10, 20 y 36 d postdestete.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados por el procedimiento GLM de SAS (1990) para diseños en bloques al azar. El peso inicial fue usado como covariable en el modelo. Los resultados se presentan como medias corregidas por mínimos cuadrados llevándose a cabo los siguientes contrastes no ortogonales: A *vs* B, A *vs* C, B *vs* C y B *vs* D.

Tabla 1. Composición y valor nutritivo de las dietas experimentales.

Ingredientes, %	Prestarter				Starter
	A	B	C	D	
Cebada	22,4	20,0	20,2	20,1	44,5
Maiz	30,0	31,6	30,8	30,1	15,0
Harina de soja, 47% PB	18,6	19,9	20,4	20,1	26,7
Manteca	-	-	-	-	5,3
Aceite de girasol	4,5	4,7	4,9	4,9	-
Harina de pescado LT	7,5	2,5	-	-	-
Harina de pescado, 65%PB	-	-	-	2,7	-
Proteína de patata [1]	-	4,0	6,0	4,0	-
Suero ácido vacuno	15,0	15,0	15,0	15,0	5,0
Otros [2]	1,45	1,81	2,09	1,6	2,57
Corrector [3]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Análisis calculado [4]					
EN, kcal/kg	2,530	2,530	2,530	2,530	2.475
Proteína bruta, %	20,6	20,6	20,6	20,6	19,7
Fibra bruta, %	2,7	2,6	2,7	2,7	3,6
Extracto etéreo, %	7,1	7,0	7,1	7,2	7,1
Lactosa, %	10,2	10,2	10,2	10,2	3,4
Lisina, %	1,44	1,44	1,44	1,43	1,33
Metionina, %	0,44	0,44	0,44	0,44	0,39
Treonina, %	0,88	0,89	0,90	0,90	0,90
Triptófano, %	0,24	0,25	0,25	0,25	0,24
Calcio, %	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75
Fósforo, %	0,70	0,66	0,66	0,66	0,66

[1] Suministrado por AVEBE. Nijverheidsstraat 8, Wildervank P.O. Box 15, 9640 AA Veendam, Holanda.
[2] Carbonato cálcico, fosfato bicálcico, cloruro sódico, L-lisina 78% HCl, DL-metionina 99% y L-treonina,
[3] Incluyó por kg de dieta: 15,000 UI vitamina A, 3,000 UI vitamina D_3, 30 ppm vitamina E, 6 ppm riboflavina, 15 ppm ácido pantoténico, 2,5 ppm piridoxina, 3 ppm tiamina, 2 ppm vitamina K, 25 ppb cianocobalamina, 25 ppm ácido nicotínico, 0,1 ppm biotina, 500 ppm colina, 0,5 ppm ácido fólico, 0,16 ppm Se, 0,5 ppm I, 0,4 ppm Co, 160 ppm Cu, 74 ppm Fe, 97,5 ppm Zn y 28,8 ppm Mn.
[4] De acuerdo con FEDNA (1999), excepto para la proteína de patata (AVEBE), para la que se utilizaron datos propios de la empresa productora (PB=80%, lisina=6,4%, metionina=1,92% y treonina=4,8%).

Resultados y discusión

El efecto del tratamiento experimental sobre la productividad de los lechones se muestra en la tabla 2. En el periodo prestarter (0 a 20 d postdestete), los animales que consumieron la dieta C (6% PP) crecieron un 6,1% y un 8,8% más rápido y tuvieron un índice de conversión un 7,1% y un 5,7% mejor que los animales que consumieron la dieta A (7,5% LT) o la dieta B (2,5% LT más 4% PP), respectivamente. Sin embargo, estas diferencias no fueron significativas (P>0,05). Asimismo, los animales que comieron la dieta B crecieron más rápido y transformaron mejor el pienso que los que comieron la dieta D (2,7% HP) (238 *vs* 222 g/d y 1,39 *vs* 1,49 g/g para crecimiento e índice de conversión, respectivamente) pero las diferencias tampoco fueron significativas (P>0,05). En el periodo starter (20 a 36 d postdestete), en el que todos los animales recibieron una dieta común, el rendimiento fue similar. Al final del ensayo (36 d postdestete), no hubo diferencias significativas en productividad entre los lechones que consumieron harina de pescado LT o una dieta con sustitución parcial o total de ésta por PP. Por otra parte, los animales que consumieron 2,5% LT y 4% PP (dieta B) durante el periodo prestarter, tendieron a crecer más rápido y mostraron una conversión alimenticia mejor que los que consumieron 2,7% HP más 4% PP (dieta D) (329 *vs* 291 g/d; P=0,08 y 1,49 *vs* 1,67 g/g; P=0,03, para las dietas B y D, respectivamente).

Bajo nuestras condiciones experimentales podemos concluir que la sustitución de harina de pescado LT por proteína de patata en piensos prestarter de lechones destetados precozmente no afecta a la productividad. Además, el uso de un 2,5% de harina de pescado LT en lugar de un 2,7% de harina de pescado de menor calidad en este periodo mejoró el rendimiento al final de la prueba aún cuando los animales habían recibido una dieta común de 20 a 36 d.

Tabla 2. Efecto del tratamiento sobre la productividad.

Periodo, d	Parámetro[1]	Tratamiento				EEM[2]	Significación[3]			
		A	B	C	D	(N=6)	A *vs* B	A *vs* C	B *vs* C	B *vs* D
0 – 20	GMD	244	238	259	222	18	NS	NS	NS	NS
	CMD	345	321	339	328	20	NS	NS	NS	NS
	IC	1,41	1,39	1,31	1,49	0,07	NS	NS	NS	NS
20 – 36	GMD	493	464	435	415	24	NS	NS	NS	NS
	CMD	738	704	690	678	31	NS	NS	NS	NS
	IC	1,49	1,54	1,58	1,65	0,07	NS	NS	NS	NS
0 – 36	GMD	343	329	316	291	15	NS	NS	NS	0,08
	CMD	520	491	495	484	20	NS	NS	NS	NS
	IC	1,51	1,49	1,57	1,67	0,05	NS	NS	NS	0,03

[1] GMD: ganancia media diaria (g/d), CMD: consumo medio diario (g/d), IC: índice de conversión (g/g).
[2] EEM: error stándar de la media.
[3] NS: P>0,10.

Referencias bibliográficas

AOAC, 1995. Official Methods of Analysis. 16th ed. Association of Official Analytical Chemical (Ed), Arlington, VA, EEUU.

FEDNA, 1999. C. de Blas, G.G. Mateos y P.G. Rebollar. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. U.P.M., Madrid, España.

Kerr A., Goodband D., Smith J., Musser R. Bergstrom J., Nessmith W., Tokach M. y Nelssen, J., 1998. J. Ani. Sci. 76:3024-3033. EEUU.

SAS Institute, 1990. 6th ed. Cary, NC. EEUU.

EFECTO DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA DIETA SOBRE DIFERENTES DEPÓSITOS LIPÍDICOS EN EL BROILER

N. Crespo y E.Esteve-Garcia

Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (I.R.T.A.), Departmento de Nutrición Animal
Centre de Mas Bové, Apartado 415, 43280 Reus (Tarragona)

INTRODUCCIÓN

Según diversos estudios en aves, las grasas poliinsaturadas son más digestibles y por tanto, poseen mayor energía metabolizable (EM) que las grasas más saturadas (Alao and Balnave, 1985). Otros estudios demuestran que, a pesar de su mayor digestibilidad y EM, las grasas poliinsaturadas producen una menor deposición de grasa abdominal (Crespo and Esteve-Garcia, 2001; Sanz et al. 1999; Vilà and Esteve-Garcia, 1996). Estos resultados sugieren que la energía procedente de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) podría ser utilizada con una menor eficiencia para la deposición de grasa. Este efecto podría ser consecuencia de un aumento en la termogénesis (Fuller and Rendon, 1979) o una inhibición de los enzimas lipogénicos (Sanz, 2000; Blake and Clarke, 1990) producidos por estos ácidos grasos (AG). Sin embargo, podría ser también producido por un diferente reparto de la grasa en el organismo. En este último caso, la grasa corporal total no se vería afectada por los diferentes perfiles de ácidos grasos en la dieta.
En este estudio se pretende determinar el efecto de la adición de diferentes tipos de grasas a la dieta (sebo, oliva, girasol y linaza) sobre varios depósitos lipídicos y sobre la grasa corporal del broiler.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron 2 experimentos.
En el experimento 1 se determinó el porcentaje de grasa abdominal y corporal. Se utilizaron 25 animales de cada tratamiento para la determinación de grasa abdominal y 10 para la determinación de grasa corporal.
En el experimento 2 se determinó el peso de los depósitos lipídicos situados en el abdomen, cuello, mesenterio y músculo sartorio y se expresaron como porcentaje sobre el peso vivo. Se utilizaron 10 animales por tratamiento.
Las dietas experimentales consistieron en 4 tratamientos constituidos por un mismo pienso basal al cual se le añadieron 4 tipos de grasa con distinto grado de insaturación (sebo, aceite de oliva, aceite de girasol y aceite de linaza) a un nivel de inclusión del 10%. En el primer experimento se añadió un quinto tratamiento sin grasa añadida. Las aves se alimentaron con las dietas experimentales desde los 28 a los 53 días de edad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el primer experimento los animales alimentados con las dietas con grasa añadida presentaron mayor peso final y mejor índice de conversión que los animales

alimentados con la dieta sin grasa añadida (datos no presentados). Entre los animales alimentados con las dietas ricas en grasa, las dietas con sebo presentaron siempre el peor IC.

Los valores más bajos de grasa abdominal y corporal se obtuvieron en los animales alimentados con la dieta sin grasa añadida (tabla 1). Las aves alimentadas con girasol y linaza presentaron valores de grasa abdominal más bajos que las alimentadas con sebo u oliva. Respecto a la grasa corporal, no se observaron diferencias significativas entre los 4 tipos de grasa.

En todos los casos, las dietas de girasol y linaza produjeron una disminución de los depósitos lipídicos estudiados respecto a las dietas de sebo y oliva (tabla 2).

La grasa corporal presentó un mismo patrón de distribución respecto a la grasa abdominal en todos los tratamientos (figura 1). Sin embargo, tanto el coeficiente de correlación como la pendiente de la recta de regresión de la grasa abdominal frente a la suma de los depósitos lipídicos fueron mayores en los animales alimentados con oliva, girasol y linaza respecto a los alimentados con sebo. Por tanto, en los animales alimentados con sebo, el crecimiento de la grasa abdominal determinó un crecimiento menor de los otros depósitos lipídicos que en los otros tratamientos, sugiriendo que en estos animales se produjo una deposición preferente de la grasa en el depósito lipídico abdominal.

Estos resultados confirman el efecto reductor de las grasas poliinsaturada sobre la grasa abdominal respecto a las grasas más saturadas (Crespo y Esteve-Garcia, 2001; Sanz et al. 1999; Vilà y Esteve-Garcia, 1996). Además, esta reducción en la grasa abdominal va acompañado de una disminución en otros depósitos lipídicos. Sin embargo, este efecto no se produce sobre la grasa corporal, o al menos no en la misma proporción que sobre los depósitos lipídicos.

Por tanto, aparte de la posible reducción de la lipogénesis producida por las grasas poliinsaturadas (Sanz, 2000), estas grasas podrían producir una diferente distribución de la grasa en el organismo respecto a las grasas más saturadas.

BIBLIOGRAFÍA

Alao, S.J. and D. Balnave. Nutritional significance of different fat sources for growing broilers. 1985. *Poultry Sci.* 64: 1602-1604

Blake, W.L.; S.D. Clarke. Suppression of rat hepatic fatty acid synthase and S14 gene transcription by dietary polyunsaturated fat. 1990. *J. Nutr.* 120: 1727-1729

Crespo, N. and E. Esteve-Garcia. Dietary fatty acid profile modifies abdominal fat deposition in broiler chickens. 2001. *Poultry Sci.* 80: 71-78

Fuller, H.L. and M. Rendon. Energetic efficiency of corn oil and poultry fat at different levels in broiler diets. 1979. *Poultry Sci.* 58: 1234-1238

Sanz, M.; A. Flores; P. Pérez de Ayala and C.J. López-Bote. Higher lipid accumulaiton in broilers fed on saturated fats than in those fed on unsaturated fats. 1999. *Br. Poult. Sci.* 40: 95-101

Sanz, M. Efecto de la saturación de la grasa dietética sobre la cantidad y la calidad de la grasa en pollos broiler. 2000. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid.

Vilà, B. and E. Esteve-Garcia. Studies on acid oils and fatty acids for chickens. I. Influence of age, rate of inclusion and degree of saturation on fat digestibility and metabolisable energy of acid oils. 1996. *Br. Poult. Sci.* 37: 105-117

Tabla 1: Grasa abdominal y corporal:

Tratamiento	Grasa abdominal (g)	Grasa abdominal (%)	Grasa corporal (g)	Grasa corporal (%)
Basal	37.7 ^{c}	1.60 ^{c}	229 ^{b}	10.87 ^{b}
Sebo	65.96 ^{a}	2.61 ^{a}	294 ^{a}	13.23 ^{a}
Oliva	61.58 ^{ab}	2.41 ^{ab}	294 ^{a}	12.88 ^{a}
Girasol	51.92 ^{b}	2.03 ^{b}	300 ^{a}	13.02 ^{a}
Linaza	53.82 ^{b}	2.13 ^{b}	286 ^{a}	12.83 ^{a}
E.S.	3.912	0.130	17.1	0.61
Sig	0.0001	0.0001	0.0302	0.0583

Tabla2:Depósitos lipídicos (gramos y porcentaje sobre peso vivo):

	Sebo	Oliva	Girasol	Linaza	S.E.	Sig
Grasa Mesenterio (g)	22.37 ^{a}	21.26 ^{ab}	15.96 ^{c}	17.79 ^{bc}	1.900	0.0485
Grasa Mesenterio (%)	0.81 ^{a}	0.77 ^{ab}	0.58 ^{c}	0.65 ^{bc}	0.061	0.0436
Grasa Cuello (g)	14.50 ^{ab}	17.44 ^{a}	13.99 ^{ab}	11.15 ^{b}	1.348	0.0174
Grasa Cuello (%)	0.53 ^{ab}	0.63 ^{a}	0.52 ^{ab}	0.41 ^{b}	0.050	0.0287
Grasa Sartorio (g)	7.92	6.66	5.55	6.22	0.626	N.S.
Grasa Sartorio (%)	0.29	0.24	0.20	0.23	0.024	N.S.
Grasa Abd. (g)	79.18 ^{a}	76.32 ^{a}	55.88 ^{b}	62.39 ^{b}	5.081	0.0044
Grasa Abd. (%)	2.89 ^{a}	2.75 ^{ab}	2.03 ^{b}	2.29 ^{ab}	0.187	0.0069
Cuello-Mesent.-Sartorio (%)	44.62 ^{a}	45.18 ^{a}	35.65 ^{b}	35.37 ^{b}	2.959	0.0293
Cuello-Mesent.-Sartorio (g)	1.64 ^{a}	1.64 ^{a}	1.29 ^{b}	1.27 ^{b}	0.105	0.0152
Total depósitos (g)	124.50 ^{a}	122.18 ^{a}	90.51 ^{b}	96.91 ^{b}	7.651	0.0051
Total depósitos (%)	4.51 ^{a}	4.37 ^{ab}	3.30 ^{c}	3.59 ^{bc}	0.286	0.0080

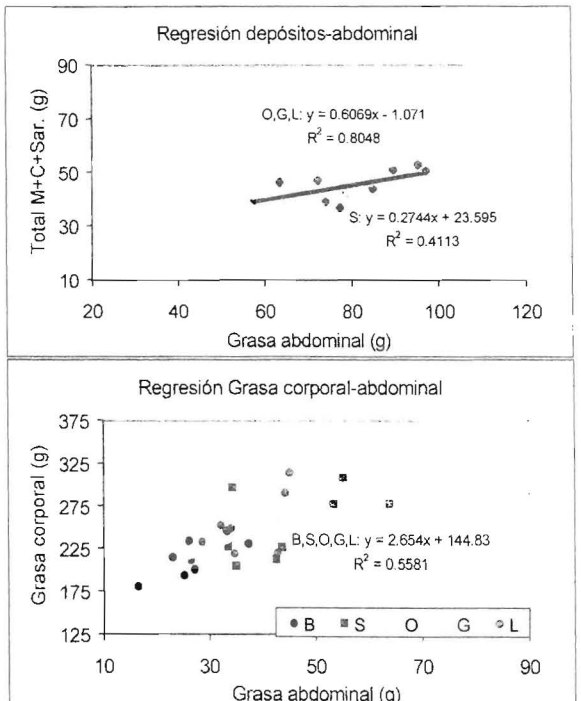


Figura 1: Rectas de regresión Depósitos lipídicos-Grasa abdominal y Grasa corporal-Grasa abdominal
M+C+Sar.=Suma de los depósitos lipídicos del cuello mesenterio y músculo sartorio.
B= Dieta basal, S=Dietas sebo, O= Dietas oliva, G= Dietas girasol, L= Dietas linaza

EFECTO DE LA CECOTROFIA SOBRE LA COMPOSICIÓN EN PROTEÍNA Y AMINOÁCIDOS DEL NITRÓGENO ENDÓGENO EN EL CONEJO.

A.I. García, A. Espinosa, C. de Blas y R. Carabaño.
Dpto.Producción Animal. ETSI Agrónomos. UPM. Madrid 28040.

INTRODUCCIÓN

Los conejos pueden utilizar para la síntesis de proteína parte de los aminoácidos de la dieta no absorbidos hasta el íleon a través de la ingestión y digestión de las heces blandas o cecotrofos. El aporte total de proteína vía cecotrofia en conejos oscila según el tipo de dieta entre un 15 y un 38% sobre el total de proteína bruta ingerida (Carabaño et al. 1988, Fraga et al. 1991). La proteína absorbida en el intestino delgado se compone por tanto de una fracción nitrogenada procedente directamente de la dieta, otra procedente de la ingestión de las heces blandas y otra de origen endógeno. La estimación de este nitrógeno endógeno resulta imprescindible para determinar posteriormente los coeficientes de digestibilidad reales comúnmente empleados en otras especies (cerdos y aves) para la valoración de alimentos. Por este motivo, el objetivo de este trabajo es determinar el efecto de la cecotrofia sobre el flujo de nitrógeno endógeno, como una de las bases para un nuevo método de valoración de alimentos en conejos que permita estimar con mayor precisión la utilización digestiva de la proteína y los aminoácidos en piensos y materias primas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Piensos. Para la determinación de las pérdidas endógenas se formuló un pienso basal cuya principal fuente de proteína era caseína y que además cubría las actuales recomendaciones en proteína total, nivel y tipo de fibra (de Blas y Mateos, 1998). Para la estimación de los flujos ileales el pienso se marcó con dicromato sódico mordanzado a la fibra. La composición en las principales materias primas y la composición química del pienso se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Composición en materias primas y composición química del pienso

Materias Primas	% Inclusión	Comp. Química	% MS
Almidón purificado	30	Almidón	17,8
Caseína	16	PB	17,5
Manteca	1,5	FND	27,6
Cascarilla de girasol	17	FAD	17,9
Paja tratada con sosa	17	LAD	5,0
Celulosa	7	PB-FND	0,8
Pectinas	6	EB (MJ kg^{-1})	29,0

Animales. Se utilizaron 10 conejas de raza Neozelandés Blanco x Californiano con un peso medio de 3,6 kg fistulizadas en íleon terminal con una cánula en T de vidrio (Merino, 1994). El pienso se suministró ad libitum durante todo el experimento controlándose el consumo de pienso diariamente.

Procedimiento experimental. Los animales se alojaron en jaulas de metabolismo en una nave de ambiente semicontrolado. De las 10 conejas, 5 se emplearon para determinar las pérdidas endógenas en una situación normal (animales realizando la cecotrofia) mientras que a las otras 5 se les colocó un collar de madera de 150 g de peso y 25 cm de diámetro que les impedía ingerir los cecotrofos. Tras 14 días de adaptación al pienso (los 2 últimos de adaptación al collar en el caso del segundo grupo de conejas) se recogieron por gravedad muestras del contenido ileal durante 4 días consecutivos (2 días por la mañana y 2 días por la tarde). Dos días después a las conejas del primer grupo (con cecotrofia)

se les colocó un collar de madera idéntico al descrito anteriormente para estimar cuál era su excreción media diaria de cecotrofos. El collar se puso a las 8:00 a.m. y se retiró 24 h después, siendo recogidas durante este periodo el total de heces blandas excretadas. Esto mismo se repitió 3 días después para determinar con mayor precisión la excreción media diaria de cecotrofos.

Las muestras del contenido ileal de la mañana (periodo de excreción de heces blandas) y de la tarde (periodo de excreción de heces duras) de cada coneja se liofilizaron individualmente para ser luego mezcladas de forma cuantitativa. En las muestras ya mezcladas (mañana + tarde) se analizó la materia seca (MS), la proteína bruta (PB), la proteína ligada a fibra neutro detergente (PB-FND) y los aminoácidos. También se analizaron los aminoácidos de la PB-FND de las muestras de contenido ileal. En los cecotrofos del primer grupo de conejas, una vez liofilizados, se analizó la MS, la PB y los aminoácidos. También se determinó la digestibilidad in vitro de la MS, la PB y los aminoácidos de esos mismos cecotrofos.

Las pérdidas endógenas ileales de PB de ambos grupos de conejas (con y sin cecotrofia) se estimaron a partir del contenido en PB del íleon, asumiendo que la digestibilidad real de la caseína es de un 100% y que la fracción indigestible de la proteína de la cascarilla de girasol y de la paja puede determinarse a partir del contenido en PB-FND del íleon. De igual forma, las pérdidas endógenas ileales de aminoácidos se estimaron a partir de la composición ileal de aminoácidos sustrayendo los aminoácidos ligados a la FND de las muestras de íleon.

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 de forma secuencial según el método descrito por Van Soest et al. (1991). El análisis de PB-FND se analizó según Licitra et al. (1996). El contenido en almidón se determinó mediante el Kit de Boehringer Mannheim nº 716251. Los aminoácidos de las muestras de íleon, cecotrofos y de los residuos de PB-FND ileales se determinaron mediante hidrólisis ácida con HCL 6N (Davies y Thomas, 1973) excepto los aminoácidos azufrados que se determinaron mediante oxidación perfórmica seguida de una hidrólisis ácida (Mason et al. 1980). Las digestibilidades in vitro de los cecotrofos se realizaron de acuerdo al método descrito por Ramos et al. (1992).

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados como un diseño completamente al azar con el tratamiento (con o sin collar) como principal fuente de variación. Para determinar el efecto del tratamiento sobre las variables estudiadas se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del programa estadístico SAS (1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran los datos relativos a los consumos de materia seca y proteína bruta del pienso y los cecotrofos y los flujos ileales de materia seca y proteína (correspondiente a la PB de origen endógeno) de los dos grupos de conejas.

Tabla 2. Consumo de MS y PB de pienso y cecotrofos y flujos ileales de MS y PB (g/día)

	Con cecotrofia	Sin cecotrofia	SE	Prob
Consumo MS pienso	107,6	111,5	6,20	0,68
Consumo MS cecotrofos	20,1	-	2,93	-
Consumo PB pienso	18,8	19,5	1,10	0,68
Consumo PB cecotrofos	2,9	-	0,37	-
Flujo ileal de MS	73,6	56,0	4,18	0,04
Flujo ileal de PB	5,4	4,5	0,36	0,14

El flujo de PB_{endog} resultó ser un 20% superior en las conejas que realizaban la cecotrofia que en las conejas con collar (P=0,14). Esta diferencia, se corresponde por un lado con el residuo resultante de la indigestibilidad (estimada por análisis in vitro) de la PB de los cecotrofos (21,4%) y por otro lado, con la mayor secreción de PB_{endog} derivada del mayor consumo de MS por la ingestión de cecotrofos (14,5%).

En la tabla 3 se muestra el perfil en aminoácidos de la PB endógena a nivel ileal en los dos grupos de conejas (g/16g N).

Tabla 3. Perfil de aminoácidos de la PB endógena (g/16g N)

	Con cecotrofia	Sin cecotrofia	SE	Prob
Aminoácidos esenciales				
Cistina	1,5	1,5	0,08	0,97
Histidina	1,4	1,5	0,05	0,13
Isoleucina	3,8	3,8	0,08	0,96
Leucina	4,5	4,3	0,10	0,20
Lisina	3,8	3,2	0,10	0,005
Metionina	0,8	0,8	0,04	0,67
Fenilalanina	1,8	1,5	0,05	0,01
Treonina	5,7	5,2	0,11	0,02
Tirosina	1,9	1,7	0,16	0,46
Valina	5,5	5,1	0,18	0,22
Aminoácidos no-esenciales				
Alanina	3,4	2,8	0,11	0,007
Arginina	3,1	2,8	0,13	0,11
Aspártico	6,7	6,6	0,17	0,65
Glutámico	12,9	13,5	0,33	0,29
Glicina	4,4	5,7	0,25	0,008
Prolina	5,4	5,5	0,09	0,34
Serina	6,5	6,8	0,16	0,14

La cecotrofia tuvo efecto sobre el perfil en algunos aminoácidos de la PB_{endog}. En el caso de los aminoácidos esenciales se observaron diferencias significativas para la lisina, fenilalanina y treonina lo que coincide con una mayor proporción de estos aminoácidos en los cecotrofos (Carabaño et al. 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC, 1990. Official Methods of Analysis (14th Ed). *Association of Official Analytical Chemists (Ed)*, Arlington, VA.

Carabaño R., Fraga MJ., Santoma G. y de Blas JC., 1988. J. Anim Sci. 66: 901-910.

Carabaño R., de Blas C. y García A.I., 2000. World Rabbit Science, Vol.8 Suppl.1:15-28

Davies MG. y Thomas AJ., 1973. J. Sci.Food Agric. 24:1525-1540.

De Blas, J.C., and G.G. Mateos. 1998. Feed Formulation. In:C. De Blas and J. Wiseman (Eds) The nutrition of the rabbit. p 241-253. Commonwealth Agricultural Bureau, Wallingford, UK.

Fraga MJ., Perez de Ayala P., Carabaño R. y de Blas JC., 1991. J. Anim. Sci. 69: 1566-1574.

Licitra G., Hernández T.M. Y Van Soest P.J., 1996. Anim. Feed Sci. Tech. 57: 347-358.

Mason VC., Rudemo M., y Bech-Andersen S., 1980. Z. Tierenahrg. Futtermittelkd. 43:35-48

Merino J.M., 1994. En: Puesta a punto de una técnica de canulación ileal en el conejo para el estudio del aprovechamiento de los nutrientes de la dieta. Tesis Doctoral U. C. Madrid.

Ramos M., Carabaño R. y Boisen S.,1992. J. Applied Rabbit Research, 15:938-946.

Statistical Analysis Systems Institute, 1990. *SAS User's guide: Statistics*. SAS Institute, Cary, NC.

Van Soest J.P., Robertson J.B., Lewis B.A., 1991. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597.

EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA Y DE LA SUSTITUCON DE ALMIDÓN POR LACTOSA SOBRE LA CAPACIDAD ENZIMÁTICA DE GAZAPOS DESTETADOS PRECOZMENTE

Gutiérrez I., Espinosa A., Carabaño R., De Blas J.C.
Dpto. Producción Animal. UPM. C/ Senda del Rey s/n
28040 Madrid

1.- INTRODUCCION

En las explotaciones intensivas puede resultar interesante el adelanto de la edad del destete de los gazapos de forma que se incremente el tiempo de descanso de la coneja entre el final de la lactación y el siguiente parto. Sin embargo, el destete precoz viene condicionado por un insuficiente desarrollo intestinal y una limitada capacidad enzimática de los gazapos jóvenes, además de existir un aumento en la aparición de problemas digestivos (De Blas et al., 1999). Un diseño apropiado de las dietas de iniciación debería tener en cuenta no solo su efecto sobre el desarrollo de los gazapos, sino también su efecto sobre la salud digestiva.

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la sustitución de almidón por lactosa y del nivel de fibra (FND) sobre la actividad de las disacaridasas intestinales y la α-amilasa pancreática.

2.- MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 64 conejos Neozelandés x Californiano sin sexar. Dos grupos de 10 conejos lactantes se sacrificaron a los 25 y 35 días de edad y se usaron como control (L25 y L35) Los restantes 44 animales fueron destetados a los 25 días y alojados individualmente. Utilizando la camada como bloque se asignaron al azar a las diferentes dietas experimentales, que fueron suministradas ad libitum. Se formularon cuatro dietas con un diseño factorial 2x2, con dos niveles de fibra (FND, 30 y 36%) y dos niveles de sustitución de almidón por lactosa (0 y 50%). Todas las dietas fueron formuladas para mantener una relación similar energía:proteína y para garantizar o exceder todos los requerimientos en nutrientes esenciales de conejos en crecimiento (De Blas y Mateos, 1998). Los ingredientes, la composición química y el valor nutritivo de las dietas se muestran en la Tabla 1. En todos los tratamientos se añadió una mezcla de 100 ppm de bacitracina de Zn y 60 ppm de apramicina. A lo largo de todo el periodo experimental se mantuvo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y se mantuvo la temperatura de la nave entre los 15 y los 24°C. A los 35 días de edad, los animales que consumían las dietas experimentales fueron sacrificados por el procedimiento de dislocación cervical a las 19:00 h. En todos los animales se tomó el páncreas completo y una porción del yeyuno para los análisis de actividad enzimática. Las muestras debieron ser previamente diluidas y homogeneizadas. La actividad amilásica pancreática se midió empleando un kit[1] comercial, en el que se mide la actividad de la amilasa (EC 3.2.1.1) mediante la liberación de Pnitrofenol por minuto a 30°C. Se empleo un kit[2] comercial para la determinación de la proteína del páncreas y del intestino basado en la técnica de Lowry modificada por Peterson (1977). En la mucosa del yeyuno se analizó la actividad de maltasa, sacarasa y lactasa, utilizando como substrato maltosa, sacarosa y lactosa, respectivamente. La glucosa liberada en 30 minutos a 37°C fue medida por el método de la glucosa oxidasa-peroxidasa. Los datos fueron analizadas utilizando el Modelo Lineal General (GLM) del

[1] Procedure No. 577. Sigma Chemical Company, St. Louis, MO 63178-9916.
[2] Procedure No. P 5656. Sigma Chemical Company, St. Louis, MO 63178-9916.

procedimiento de Statistical Analysis Systems Institute Inc (SAS, 1990) como un diseño completamente al azar con la camada como efecto bloque. Se realizaron contrastes ortogonales para la comparación de medias. Los valores que se presentan son medias ajustadas por mínimos cuadrados.

Tabla 1. Ingredientes y composición química de las dietas experimentales

Dieta:	1	2	3	4
Nivel de sustitución de almidón y azúcares por lactosa (%):	0	50	0	50
FND:	30	30	36	36
Ingrediente, % pienso				
Permeato de lactosa	-	15.8	-	12.2
Trigo	32.3	10.9	21.6	5.7
Manteca	2.6	2.6	2.6	2.6
Harina girasol 36	7.0	9.0	6.5	7.5
Harina soja 44	11.0	14.2	10.3	11.7
Salvado trigo	8.4	9.3	8.5	9.3
Heno alfalfa	25.9	25.6	25.8	25.6
Cascarilla girasol	5.0	5.5	8.0	8.4
Paja	5.0	5.5	8.0	8.4
Cascarilla soja	-	-	3.0	3.4
Pulpa de remolacha	-	-	3.0	3.4
Alfalfa marcada con Yb	0.40	0.40	0.40	0.40
Otros[1]	2.35	1.23	2.32	1.39
Análisis químico, % MS				
Almidón	22.6	10.3	16.8	7.5
Lactosa	-	14.3	-	10.8
Proteína bruta	18.3	18.5	16.9	17.0
Fibra neutro detergente	33.6	34.1	40.6	40.5
Lignina ácido detergente	4.4	4.2	5.3	5.4
Energía digestible, MJ/kg MS[2]	10.7	10.7	9.8	9.7

[1] Fosfato cálcico, carbonato cálcico, cloruro sódico, L-Lisina HCl 78, DL-Metionina 99, L-Treonina, premezcla de robenidina, corrector vitamínico-mineral proporcionado por Ibérica de Nutrición Animal, S.L.
[2] Valores calculados según las tablas FEDNA (1999) de composición de materias primas.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos en este ensayo se muestran en la Tabla 2. En animales lactantes se observó un aumento con la edad de la actividad de la α-amilasa pancreática y de la sacarasa intestinal y una caída de la actividad de la lactasa ($P<0.01$). Sin embargo, la actividad de la maltasa intestinal no fue significativamente distinta. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros trabajos donde se estudió el desarrollo con la edad de las actividades enzimáticas del páncreas y de las maltasas intestinales en conejos (Dojana et al, 1998; Scapinello et al, 1999). Comparando la actividad enzimática de animales lactantes con animales destetados de 35 d de edad, se observó un descenso de la

actividad de la maltasa y de la sacarasa con el destete y una mayor actividad de la α-amilasa pancreática (P<0.01). Corring et al (1971) también observaron un aumento de la actividad de la amilasa en animales destetados con respecto a animales lactantes de igual edad. No se encontraron diferencias significativas en la actividad de la lactasa. En animales destetados se observó que el tipo de pienso no afectó a la actividad de la sacarasa ni de la lactasa. Sin embargo, los animales alimentados con dietas de mayor nivel de fibra mostraron un aumento de la actividad de la α-amilasa y la maltasa (P<0.01). Estos resultados coinciden con los obtenidos en trabajos realizados *in vitro* donde se vio que la inclusión de fibra soluble en la dieta incrementaba la actividad amilásica (Schneeman, 1982, Dunaif y Schneeman, 1981). En conclusión, en animales de 35 d de edad la capacidad de digerir lactosa podría estar limitada, no existiendo una respuesta en la capacidad enzimática a la inclusión de lactosa en el pienso. Por el contrario, parece que los animales destetados son capaces de aumentar su respuesta enzimática frente a la ingestión de almidón.

Tabla 2. Actividad específica (U/mg proteína del tejido) de las disacaridasas intestinales y de la α-amilasa pancreática en gazapos destetados precozmente

Dieta:	**1**	**2**	**3**	**4**								
Nivel de sustitución de almidón y azúcares por lactosa (%):	0	50	0	50	**Control Lactantes**			**Contrastes**[1]				
FND:	30	30	36	36	L25	L35	SEM	1	2	3	4	5
Yeyuno												
N = 62	11	10	10	11	10	10						
Proteína[2]	110.5	114.6	94.0	97.8	108.9	120.0	7.30	0.32	0.08	0.04	0.63	0.99
Maltasa	4939	5128	11549	7761	9846	10436	933	0.65	<0.01	<0.01	0.06	0.04
Sacarasa	1336	1471	1309	1695	1047	2786	254	<0.01	<0.01	0.69	0.30	0.61
Lactasa	216	257	185	175	4879	681	263	<0.01	0.16	0.83	0.95	0.92
Log10 lactasa	1.98	2.3	2.21	2.14	3.66	2.78	0.125	<0.01	<0.01	0.79	0.32	0.11
Páncreas												
N = 60	11	10	10	11	9	9						
Proteína	111	117	117	105	147	77.3	10.1	<0.01	<0.01	0.72	0.78	0.35
Amilasa	737	764	902	926	64.5	522	80.6	<0.01	<0.01	0.05	0.77	0.98

[1] *Contrastes*: **1**; L25 vs L35; **2**; L35 vs alimentación sólida (1+2+3+4); **3**; 30% FND vs 36% FND = (1 vs 3); **4**; inclusión de lactosa = (1+3) vs (2+4); **5**; interacción (FND x lactosa) = (1+4) vs (2+3)

[2] µg proteína/mg tejido

4.- REFERENCIAS

De Blas J.C., Mateos G.G., 1998. In: The Nutrition of the rabbit .De Blas J.C., Wiseman J. (Eds.), CAB Int.; Wallingford. pp 241

De Blas J.C., Gutiérrez I., Carabaño R., 1999. In: Avances en Nutrición y Alimentación Animal, FEDNA, Madrid, pp 67

Dojana N., Costache M., Dinischiotu A., 1998. Anim. Sci. 66: 501

Dunaif G. y Schneeman, B.O., 1981. Am. J. Clin. Nutr., 34: 1034

FEDNA, 1999. C. de Blas, G.G: Mateos y P.G. García. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.

Peterson G.L. 1977, Anal. Biochem. 83: 346.

SAS. 1990. SAS/STAT® User's Guide (Version 6. Fourth Edition). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Scapinello C., Gidenne T., Fortun-Lamothe L. 1999. Reprod. Nutr. Dev. 39: 423-432.

Scheneman B.O, 1982. In Dietary Fiber in Health and Disease, ed. G.V. Vahouny, D. Kritchevsky, pp. 73-83.

PREDICCION DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA PLANTA ENTERA DE CEBADA, CONSUMIDA POR EL GANADO OVINO EN ESTADO MADURO

O. Valiente, P. Delgado, A. de Vega y J. A. Guada
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La estimación de la ingestión, digestibilidad y selección de la dieta en animales en pastoreo es un problema de difícil solución, que ha sido abordado en la última década mediante la utilización, como marcadores internos, de los n-alcanos de número impar de átomos de carbono presentes en las ceras de la cutícula (MAYES y DOVE, 2000). Dado que la recuperación en heces de estos hidrocarburos es incompleta, y varía con la longitud de la cadena, se hace preciso corregir la concentración mediante la administración de alcanos externos de cadena par (MAYES *et al.*, 1986). La forma recomendada de dosificación (MAYES y DUNCAN, 1999) consiste en la introducción en el rumen de cápsulas que liberan de forma lenta los alcanos contenidos durante un periodo mínimo de 20 días, aunque su capacidad es limitada y sólo permiten la incorporación de dos marcadores en las dosis necesarias. Para corregir las concentraciones fecales de alcanos en función de su recuperación es deseable administrar dos patrones externos (habitualmente C_{24} y C_{32}; OLIVÁN y OSORO, 1999), con lo que la capacidad de las cápsulas de liberación lenta queda saturada, siendo imposible incluir el alcano C_{36}, de muy alta recuperación en heces, y por tanto de elección a la hora de estimar la digestibilidad mediante este método (DOVE y OLIVÁN, 1998). El objetivo del presente trabajo se centra en el establecimiento de una ecuación de predicción de la digestibilidad en animales que consumen diferentes proporciones de cebada en grano y paja, con objeto de aplicarla al pastoreo de la cebada madura en pie, evitando así la necesidad de dosificación del alcano C_{36}.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dieciseis ovejas adultas de raza Rasa Aragonesa, con un peso vivo medio de 57,2 ± 0,67 kg al inicio del experimento, distribuídas en cuatro tratamientos consistentes en distintas proporciones de paja de cebada y grano (40:60, 55:45, 70:30 y 85:15), de la variedad Albacete R-1, empleada en un experimento previo sobre el consumo de la cebada en pie como recurso de verano en zonas áridas (VALIENTE *et al.*, 2000). Los animales fueron alojados en jaulas de descanso durante un periodo de acostumbramiento a las dietas de 24 días, tras el cual fueron introducidos en jaulas de metabolismo para, tras una fase de adaptación a las mismas de cinco días, realizar un balance de digestibilidad durante una semana. La ración diaria se administró en una sola toma, a las 8:00 horas, durante todo el periodo experimental, utilizando comederos diferentes para el grano y para la paja. El nivel de ingestión se restringió para minimizar la aparición de rehusos, y fue fijado, para cada animal, durante el periodo previo de adaptación a la dieta. El contenido en materia seca (MS) de los alimentos ofrecidos, rehusos y heces, fue determinado traspor desecación a 104 °C, en estufa de ventilación forzada, durante un periodo de 24 horas. El porcentaje de materia orgánica (MO) fue determinado por diferencia de la MS con el contenido en cenizas, obtenido por incineración en horno mufla a 550 °C durante ocho horas. El contenido en proteína bruta (PB) fue analizado mediante la técnica Kjeldhal, y el de fibra neutro detergente (FND),

siguiendo el protocolo propuesto por VAN SOEST *et al.* (1991).. Los coeficientes de digestibilidad de la MS y sus fracciones (MO, PB y FND) fueron sometidos a análisis de varianza, utilizando el método de los polinomios ortogonales para establecer su evolución (lineal, cuadrática o cúbica) en función de las proporciones de grano y paja en la ingesta.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados medios de ingestión y digestibilidad de las cuatro dietas utilizadas en el experimento. No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre dietas ni en la ingestión de materia seca (expresada bien en g/día o en g/kg $PV^{0,75}$) ni en la de materia orgánica digestible (g/kg $PV^{0,75}$), aunque en este último caso se registraron diferencias de hasta un 25% entre la dieta constituída por un 45% de grano y un 55% de paja, y el resto de tratamientos. Asumiendo un contenido en energía metabolizable (EM) de la MO digestible de 3,72 Mcal/kg, y unas necesidades de mantenimiento de 90 Kcal EM/kg $PV^{0,75}$/d, los planos de alimentación alcanzados en cada uno de los tratamientos fueron de 1.01, 1.08, 0.86 y 0.88 veces las necesidades de mantenimiento para las dietas 60/40, 45/55, 30/70 y 15/85, respectivamente.

Tabla 1: Ingestión de materia seca (MSI) y materia orgánica digestible (MODI), y digestibilidades de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO), proteína bruta (DPB) y fibra neutro detergente (DFND) de las dietas constituídas por diferentes proporciones de grano y paja (60/40, 45/55, 30/70 y 15/85).

Dieta	60/40	45/55	30/70	15/85	EEM[1]
MSI (g/d)	732	803	723	764	44,4
MSI (g/kg $PV^{0,75}$)	36,7	42,1	37,0	40,5	2,33
MODI (g/$kg^{0,75}$)	24,3	26,1	20,9	21,2	1,60
DMS (%)	$66,5_a$	$62,7_a$	$57,4_b$	$53,4_c$	1,28
DMO (%)	$68,3_a$	$64,4_a$	$59,2_b$	$54,9_c$	1,29
DPB (%)	$58,4_a$	$54,2_a$	$43,1_b$	$30,8_c$	2,49
DFND (%)	55,5	56,6	55,0	55,2	1,34

[1] Error estándar de la media.
Valores con distinto subíndice dentro de una misma línea son estadísticamente diferentes (P<0,05).

La digestibilidad de la MS, MO y PB varió con la composición de la dieta (P<0,001), pero la digestibilidad de la FND se mantuvo constante (P=0,8339), lo que indica que la actividad fibrolítica de las bacterias del rumen no se vio deprimida, incluso con el nivel más alto de grano. Como era de esperar, los coeficientes de digestibilidad de la MS, MO y PB disminuyeron conforme aumentó la proporción de paja en la dieta, siendo la relación entre ambas variables lineal en todos los casos (P<0,001), no presentando significación estadística ni el componente cuadrático ni el cúbico de la regresión entre ambos parámetros. Esta linearidad pone de manifiesto la ausencia de efectos asociativos para el rango de proporciones de cebada en grano y paja estudiado.

Las ecuaciones que relacionaron la digestibilidad con la composición de la dieta fueron las siguientes

$$\% \text{ DMS} = 48{,}51 + 0{,}2985 \text{ (\% grano)}; \; r^2 = 0{,}9980 \qquad (1)$$

$$\% \text{ DMO} = 49{,}97 + 0{,}3037 \text{ (\% grano)}; \; r^2 = 0{,}9993 \qquad (2)$$

$$\% \text{ DPB} = 22{,}28 + 0{,}6317 \text{ (\% grano)}; \; r^2 = 0{,}9684 \qquad (3)$$

y las relaciones obtenidas al comparar las digestibilidades estimadas a partir de las anteriores ecuaciones de regresión con las obtenidas "in vivo", las que a continuación se expresan

$$\text{DMS "in vivo"} = 0{,}42 + 0{,}9927\text{DMS (1)}; \; r^2 = 0{,}83$$

$$\text{DMO "in vivo"} = 0{,}46 + 0{,}9926\text{DMO (2)}; \; r^2 = 0{,}84$$

$$\text{DPB "in vivo"} = 0{,}15 + 0{,}9967\text{DPB (3)}; \; r^2 = 0{,}83$$

En todos los casos, las ordenadas en el origen no fueron distintas de cero ($P>0{,}05$), y las pendientes no distintas de uno ($P>0{,}05$), lo que junto con los elevados coeficientes de determinación observados da una idea de la bondad de las ecuaciones propuestas para predecir la digestibilidad en animales consumiendo cebada y paja en diferentes proporciones. Ha de tenerse en cuenta, sin embargo, que en condiciones de pastoreo, el consumo selectivo de hojas y tallos a lo largo del periodo de aprovechamiento (VALIENTE *et al.*, 2000) afecta a la composición de la paja consumida, dificultando la extrapolación a estas circunstancias de la respuesta de la digestibilidad determinada en el presente experimento, donde la capacidad de selección de los animales se vio reducida por el nivel de ingestión impuesto, y por tanto la composición de la paja consumida fue, necesariamente, más homogénea.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DOVE, H. y OLIVÁN, M., 1998. Animal Production in Australia, 22, 189-192.

MAYES, R. W. y DOVE, H., 2000. Nutrition Research Reviews, 13, 107-138.

MAYES, R. W. y DUNCAN, A. J., 1999. En: Emerging techniques for studying the nutritional status of free-ranging Herbivores [H. Dove y S. W., editores]. Satellite Meeting of the Vth International Symposium on the Nutrition of Herbivores, San Antonio, Texas (CD-ROM).

MAYES, R. W., LAMB, C. S. y COLGROVE, P. M., 1986. Journal of Agricultural Science, 107, 161-170.

OLIVÁN, M. y OSORO, K., 1999. Journal of Agricultural Science, 132, 305-312.

VALIENTE, O. L., MOTA, M., DELGADO, P., DE VEGA, A. y GUADA, J. A., 2000. Producción ovina y caprina, 25, 287-290.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B. y LEWIS, B. A., 1991. Journal of Dairy Science, 74, 3583-3597.

LA FERMENTACIÓN RUMINAL EN OVEJAS PASTOREANDO CEBADA MADURA EN PIE

O. Valiente, M. Mota, A. de Vega y J. A. Guada
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

En un experimento previo (VALIENTE *et al.*, 2000) se ha establecido la carga ganadera óptima para el consumo a diente de la cebada madura, bien suplementada con nitrógeno (100 g de torta de girasol por animal y día) o sin suplementar. La suplementación permitió obtener mayores ganancias de peso, pero con una carga óptima inferior, lo que anuló las diferencias en el rendimiento por Ha. Esta diferente respuesta puede ser consecuencia de un efecto positivo de la suplementación sobre la fermentación ruminal, favoreciendo la degradación de la fibra e incrementando la ingestión de forraje (HOOVER, 1986).

Con el fin de confirmar esta respuesta, en el presente trabajo se ha estudiado la influencia de la suplementación con urea sobre la evolución del pH y la concentración ruminal de amoníaco y ácidos grasos volátiles (AGV) en ovejas consumiendo a diente cebada madura en pie. Adicionalmente, se estudió el efecto del manejo del pastoreo, comparándose el aprovechamiento continuo frente al secuencial.

MATERIAL Y MÉTODOS

En un diseño factorial "cross-over" , con doce ovejas adultas de raza Rasa Aragonesa, canuladas en rumen y con un peso vivo medio de 48,3 ± 1,34 kg al inicio del experimento, se compararon dos niveles de suplementación nitrogenada (0 y 10 g/día de urea diluida al 10%) y dos formas de aprovechamiento de la planta madura de cebada: pastoreo continuo, durante 30 días, o secuencial con aprovechamiento diario de la superficie correspondiente.

La superficie cultivada fue de 0,5 Ha, de la cual la mitad fue utilizada como reserva de pasto y la otra dividida en ocho parcelas, cuatro de las cuales fueron aprovechadas en pastoreo continuo durante dos periodos de 30 días (96 ovejas/Ha en 30 días), y las otras cuatro en periodos secuenciales de un día con la misma presión de pastoreo. Cada seis días se tomaron muestras de líquido del rumen a las 0, 2, 4, 8, 12 y 24 horas tras la administración de la urea, con objeto de determinar la evolución de la fermentación ruminal a lo largo del periodo experimental.

Los valores medios diarios se sometieron a análisis de varianza para establecer el efecto de la forma de aprovechamiento, la suplementación nitrogenada, el día de muestreo, la variabilidad animal y las correspondientes interacciones sobre los valores de pH, las concentraciones de amoníaco y AGV, y las proporciones molares de ácido acético, propiónico y butírico en el rumen. En aquellos casos en que un efecto resultó significativo, los valores medios fueron comparados mediante el test de la mínima diferencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las concentraciones medias de AGV y amoníaco, junto con los valores de pH y las proporciones molares de acético, propiónico y butírico obtenidos con los distintos tratamientos.

La concentración media de AGV en el rumen no se vio afectada ni por la forma de aprovechamiento del pasto ni por la suplementación nitrogenada, aunque con los dos manejos del pastoreo se evidenció una tendencia (P<0,1) a ser mayor en los animales no suplementados.

Tabla 1: Concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV, mmol/l)) y de amoníaco (NH_3, mg/l), valores de pH y proporciones molares (%) de ácido acético (Ac), propiónico (Prop) y butírico (But) en el rumen de ovejas pastoreando cebada madura pie, con periodos de aprovechamiento mensual o diario, y suplementadas (S) o no (NS) con una solución de urea (10 g/día).

Aprovechamiento		Diario		Mensual	Media	EEM[1]
AGV	S	88,9		103,9	96,4	1,47
	NS	94,3		110,1	102,2	
	Media	91,6		107,0		
	EEM[2]		5,02			
NH_3	S	$^{A}307,7_{a}$		$^{A}247,7_{b}$	277,7	8,24
	NS	$^{B}153,3$		$^{B}139,4$	146,3	
	Media	230,5		193,6		
	EEM[2]		12,49			
pH	S	6,62		6,58	$^{A}6,60$	0,022
	NS	6,44		6,40	$^{B}6,42$	
	Media	6,53		6,49		
	EEM[2]		0,069			
Ac	S	$^{A}70,0_{a}$		$66,5_{b}$	68,3	0,26
	NS	$^{B}66,8$		67,5	67,1	
	Media	68,4		67,0		
	EEM[2]		0,92			
Prop	S	$^{A}16,8_{a}$		$17,8_{b}$	17,3	0,23
	NS	$^{B}18,4_{b}$		$17,1_{a}$	17,7	
	Media	17,6		17,4		
	EEM[2]		0,43			
But	S	$^{A}9,9_{a}$		$12,8_{b}$	11,4	0,25
	NS	$^{B}11,1_{a}$		$12,4_{b}$	11,7	
	Media	10,5		12,6		
	EEM[2]		0,76			

[1] Error estándar de la media para comparaciones entre suplementaciones.
[2] Error estándar de la media para comparaciones entre formas de aprovechamiento.
$^{A, B}$ Valores con distinto superíndice dentro de una misma columna son estadísticamente diferentes (P<0,05).
$_{a, b}$ Valores con distinto subíndice dentro de una misma fila son estadísticamente diferentes (P<0,05).

La suplementación con urea incrementó la concentración de amoníaco en el líquido ruminal (P<0,05), siendo mayor el aumento en los animales forzados al aprovechamiento diario del forraje que en los mantenidos en pastoreo continuo, como puso de manifiesto la significación estadística de la interacción entre los efectos principales (P<0,05). El incremento en la concentración de amoníaco se reflejó en un mayor pH del líquido ruminal (P<0,01) aunque, a diferencia de aquél, éste no difirió entre las dos modalidades de aprovechamiento.

La suplementación con urea afectó también a la concentración relativa de AGV en el líquido ruminal, incrementando la proporción molar de acético (P<0,001), y disminuyendo la de propiónico (P<0,01) y butírico (P<0,05), pero sólo cuando el manejo del pastoreo fue secuencial.

El conjunto de resultados muestra que las condiciones de fermentación ruminal fueron, por término medio, más favorables en el caso del pastoreo continuo

debido, probablemente, a la mayor capacidad de selección de grano durante el período de pastoreo con mayor disponibilidad de forraje (VALIENTE *et al.*, 2000), lo que vendría acompañado de un mayor aporte energético y, por tanto, de una mayor captación de amoníaco por parte de las bacterias ruminales (SINCLAIR *et al.*, 1993).

La concentración ruminal de amoníaco observada en los animales sin suplementar superó el mínimo requerido para maximizar la actividad microbiana, según estimaciones *in vitro* (SLYTER *et al.*, 1979) e *in vivo* con dietas forrajeras (BALCELLS *et al.*, 1993), lo que se vio confirmado por la falta de respuesta de la concentración de AGV a la suplementación nitrogenada de los animales en pastoreo continuo. Las variaciones en la concentración relativa de AGV observadas en las condiciones de pastoreo secuencial han de ser, por tanto, atribuídas al efecto de la elevada concentración de amoníaco sobre el metabolismo de la población ruminal, y/o a las interacciones entre especies bacterianas (WOLIN Y MILLER, 1988).

Ya que con las dos modalidades de manejo del pastoreo la carga ganadera fue igual, y similar el nivel de deplección de la biomasa alcanzado al final del período de aprovechamiento, las posibilidades de seleccionar la dieta fueron probabalemente disminuyendo en las condiciones de pastoreo continuo (VALIENTE *et al.* 2000), lo que debería de haberse traducido en un deterioro de la calidad de la dieta y condiciones más inestables de fermentación ruminal. Sin embargo, los resultados avalan la hipótesis contraria, siendo probable que la capacidad de adaptación del rumen a un cambio progresivo de la dieta se traduzca en condiciones de fermentación mas estables que las promovidas por una dieta de composición constante pero más heterogenea.

Dado que no se evidenció una carencia de amoníaco en el rumen de los animales que consumían la planta de cebada sin suplementar, ni un beneficio de la adición de urea, las mejoras observadas por VALIENTE *et al.* (2000) al suplementar el pasto con harina de girasol pudieron deberse al aporte de aminoácidos preformados, o al incremento en el aporte energético que supuso la suplementación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALCELLS, J., GUADA, J.A., CASTRILLO, C., GASA, J., 1993. Brtish Journal of Nutrition, 69, 721-732

HOOVER,W.H., 1986. Journal of Dairy Science, 69, 2755-2766.

SINCLAIR, L. A., GARNSWORTHY, P. C., NEWBOLD, J. R., BUTTERY, P. J., 1993. Journal of Agricultural Science, 120, 251-263.

SLYTER, L. L., SATTER, L. D., DINIUS, D. A., 1979. Journal of Animal Science, 48, 906-912.

VALIENTE, O. L., MOTA, M., DELGADO, P., DE VEGA, A., GUADA, J. A., 2000. Producción Ovina y Caprina, nº XXV, 287-290.

WOLIN, M.J., MILLER, T.L., 1988. En: The Rumen ecosystem. Ed. N. Hobson. Elsevier. A.S. pp.343-359.

EFECTO DE LA RELACIÓN FORRAJE CONCENTRADO EN LA RACIÓN SOBRE LA PRODUCCIÓN DE SALIVA EN EL GANADO OVINO

M.A Pellitero, C. Valdés, J.S. González, M.D. Carro, y S. López
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León[1]

INTRODUCCIÓN

La utilización de niveles elevados de concentrado en las raciones de los rumiantes lleva consigo transtornos en la fisiología digestiva determinados por valores muy bajos de pH en el líquido ruminal (Owens *et al.*, 1996).

Esta situación de acidosis viene determinada, por una parte, por la rápida fermentación de los hidratos de carbono que contienen los concentrados y, por otra, por un descenso en la producción de saliva (Nørgaard, 1993), ya que la saliva representa el principal mecanismo de neutralización del medio ruminal (Kay, 1966; Carter y Grovum, 1990).

La producción de saliva depende fundamentalmente del comportamiento ingestivo – definido por las pautas de masticación y rumia – el cual, a su vez, varía con la relación forraje concentrado de la ración, la forma de presentación del forraje y con la especie de rumiante (Van Soest, 1994).

En este trabajo se estudia el efecto de la relación forraje concentrado en la ración sobre el comportamiento ingestivo y el ritmo de producción de saliva por la glándula parótida en el ganado ovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 ovejas adultas, no gestantes ni lactantes, de raza Merina de 63,0±4,20 kg de peso. Los animales permanecieron en una nave con iluminación continua, alojados en jaulas individuales diseñadas al efecto (González *et al.*, 1997).

Se formularon dos raciones isonitrogenadas (26,4 g de nitrógeno / kg MS) en las que se combinaron un forraje y un concentrado en las proporciones (expresadas en materia fresca (MF)) 80:20 (ración **C20**) y 20:80 (ración **C80**). Como forraje se empleó un heno de alfalfa y como concentrado una mezcla de maíz aplastado, cebada aplastada y harina de torta de soja en las proporciones 44:39:17 (MF). A cada una de las raciones se el añadieron melazas de remolacha y un corrector vitamínico-mineral (35 y 30 g / kg MS, respectivamente). El contenido en FND de las raciones **C20** y **C80** fue de 332 y 195 g / kg MS, respectivamente. Todos los componentes de ambas raciones se mezclaron en las proporciones anteriormente descritas para ser administradas a los animales en forma de raciones completas en dos tomas diarias iguales (600 g) separadas entre sí por un período de 12 h. Los rehusados, en caso de presentarse, se retiraron y se registró su cantidad antes de la comida de la mañana. Los animales dispusieron de agua a voluntad. Todos los animales recibieron ambas raciones en dos períodos consecutivos, de acuerdo con un diseño conmutativo.

Después de un período de adaptación a la ración y al nivel de ingestión de al menos 15 días, se sometió a los animales, bajo anestesia, a la inserción de un tubo de de PVC de 2,5 mm de diámetro externo y 1,5 mm de diámetro interno en el conducto excretor de la glándula parótida derecha, siguiendo el procedimiento descrito por Carter y Grovum (1988). Los tres días siguientes se registró continuamente la producción de saliva y la actividad de los animales empleando un circuito cerrado de televisión y vídeo, tal como describen Juarrero *et al.* (1998).

[1] Proyecto C.I.C.Y.T AGF98-0874

Durante el posterior estudio de los vídeos, se registraron las actividades de ingestión y rumia. Cuando no se observó que los animales realizaran ninguna de ambas actividades durante más de 2,5 minutos se consideró que se hallaban en reposo (descanso).

El efecto de la relación forraje concentrado se analizó mediante una prueba t de Student para el contraste de la igualdad de medias obtenidas a partir de observaciones pareadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se representan los resultados relativos al comportamiento ingestivo (ingestión, rumia y descanso) y al ritmo de producción de saliva por la glándula parótida asociado a cada una de las tres actividades. Los animales que recibieron la ración **C20** emplearon diariamente más tiempo (minutos) rumiando ($P<0,01$) y tendieron ($P<0,10$) a emplear más tiempo comiendo que los que recibieron la ración **C80** (319,2±35,45 *vs.* 90,2±31,83; 68,1±5,85 *vs* 45,8±5,85 para las actividades de rumia e ingestión, respectivamente). La inclusión de una mayor proporción de concentrado en la ración no afectó significativamente ($P>0,10$) al ritmo de producción de saliva (mL / minuto) por la glándula parótida, que alcanzó los valores medios de 5,2±0,83 (**C20**) y 4,6±0,63 (**C80**) durante la ingestión, 3,7±0,49 (**C20**) y 4,9±0,92 (**C80**) durante la rumia, y 1,3±0,38 (**C20**) 1,0±0,20 (**C80**) durante el descanso. Como consecuencia de lo expuesto, la producción diaria de saliva por la glándula parótida derecha fue mayor ($P<0,05$) para la ración **C20** (3125±498,2 mL) que para la **C80** (2107±308,2 mL)

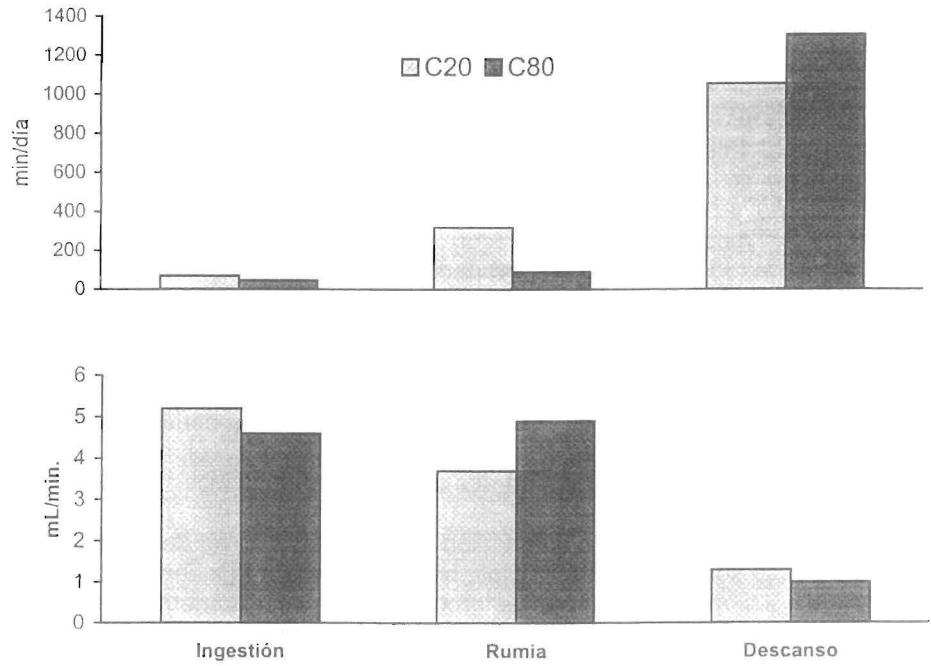


Figura 1. Tiempo diario (minutos) ocupado en la ingestión de alimento, la rumia o el descanso y producción de saliva (mL/minuto) de una glándula parótida por ovejas que reciben la ración **C20** ó **C80**

Los resultados del presente trabajo parecen confirmar que la inclusión de proporciones elevadas de concentrado en la ración reduce la producción de saliva como consecuencia de una disminución en el tiempo dedicado a la rumia (Jacques *et al.*, 1989). El menor flujo diario de saliva al rumen puede reflejarse en los valores de pH ruminal. En un experimento previo se estudió el efecto de la proporción de concentrado en la ración sobre distintos parámetros indicativos de la fermentación ruminal, empleando las mismas raciones y los mismos animales que en el presente trabajo. En efecto, los valores medios del pH ruminal fueron de 6,45 y 5,98 para las raciones **C20** y **C80**, respectivamente, manteniéndose con valores inferiores a 6 durante menos de 2 horas diarias con la ración **C20** y durante casi 15 horas con la **C80** (Carro *et al.*, 2000).

En resumen, y a modo de conclusión, el incremento en la proporción de concentrado en la ración redujo el tiempo destinado a la masticación y la rumia. En consecuencia, aunque no se detectaron diferencias significativas en el ritmo de producción de saliva, la producción diaria por la glándula parótida disminuyó al disminuir la proporción de forraje.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D., Valdés, C., Ranilla, M.J., González, J.S. 2000. Effect of forage to concentrate ratio in the diet on ruminal fermentation and digesta flow kinetics in sheep offered food at a fixed and restricted level of intake. *Anim. Sci.*, **70:** 127-134

Carter, R.R., Grovum, W.L. 1988. Reversable re-entrant cannulation of the parotid duct in sheep. *Can. J. Anim. Sci.*, **68:** 305-309.

Carter, R.R., Grovum, W.L. 1990. A review of the physical significance of hypertonic body fluid on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.*, **68:** 2811-2832

González, J.S., López, S., Carro, M.D., Valdés, C. 2000. Efecto de la forma física de la dieta sobre la producción de saliva en el ganado ovino y caprino. *ITEA*, Vol. Extra **18:** 22-24.

Jacques, K., Harmon, D.L., Croom. Jr, W.J., Hagler, Jr., W.M. 1989. Estimating salivary flow and ruminal water balance of intake, diet, feeding pattern and slaframine. *J. Dairy Sci.*, **72:** 443-452.

Juarrero, A., González, J.S., López, S., Valdés, C. 1998. Parotid salivation rates in sheep and goats fed chopped or pelleted alfalfa. *Proc. Annual Meeting of the B.S.A.S.* pp.89.

Kay, R.N.B. 1966. The influence of saliva on digestion in ruminants. *Wld Rev. Nutr. and Diet.*, **6:**292-325.

Nørgaard, P., 1993. Saliva secretion and acid-base status of ruminants. A review. *Acta vet. scand.*, **Suppl. 89:** 93-100.

Owens, F.N., Secrist, D.S., Hill, W.J., Gill, D.R. 1998. Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, **76:** 275-286.

Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornelll University Press. N.Y. pp. 230-252.

EVOLUCIÓN DE LA RESPUESTA EN LA PRODUCCIÓN UNILATERAL DE SALIVA PAROTÍDEA A LA INCLUSIÓN DE QUEBRACHO EN LA DIETA EN GANADO OVINO Y CAPRINO

A.Z.M. Salem, J.S. González, S. López y M.J. Ranilla
Dpto. Producción Animal I. Universidad de León. 24071 León[1]

INTRODUCCION

Los taninos condensados son compuestos polifenólicos de las plantas, potencialmente dañinos para los animales a concentraciones elevadas. Para contrarrestar o disminuir sus efectos, algunas especies animales han desarrollado mecanismos defensivos, como la producción de proteínas salivales ricas en prolina, que tiene una elevada afinidad por los taninos, neutralizando así su efecto (Mehansho et al., 1987). Austin et al. (1989) pusieron de manifiesto la presencia de estas proteínas salivales ricas en prolina en especies de rumiantes que realizan un consumo de alimentos muy selectivo y su ausencia en otras cuya capacidad de selección es menor. Sin embargo, no existe información ni sobre el efecto de la ingestión de taninos sobre la producción total de saliva ni sobre los posibles cambios en el tiempo como respuesta a la ingestión continuada de taninos.

En el presente trabajo se estudia la evolución de la respuesta en la producción de saliva de la glándula parótida a la inclusión de quebracho en la dieta en dos especies de animales rumiantes, ovinos y caprinos, caracterizadas por tener un comportamiento alimentario diferente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevaron a cabo dos experimentos, utilizando en ambos el mismo diseño experimental y persiguiendo los mismos objetivos.

En el experimento 1, realizado en la primavera-verano de 1999, se utilizaron 8 ovejas adultas de raza Merina y un peso medio de 49,4±**4,23** kg. El experimento 2 se llevó a cabo en la misma época del año 2000 y en él se emplearon 8 cabras adultas de raza Alpina y 53,2±**2,51** kg de peso medio.

En ambos experimentos, 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 picado administrado en una sola toma al día y a un nivel de 20 g MS/kg PV. 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**, el heno de alfalfa fue tratado con 200 ml de agua por kg de MS, empleando en ambos casos un pulverizador.

Se determinó la producción total de saliva de la glándula parótida derecha siguiendo el procedimiento descrito por González et al. (1997) durante 48 horas en tres periodos diferentes correspondientes a los días 1 (**P1**), 30 (**P2**) y 60 (**P3**) después de iniciarse la administración del heno de alfalfa tratado con quebracho.

[1] Proyecto C.I.C.Y.T AGF98-0874

Los datos de producción de saliva fueron analizados por ANOVA utilizando un diseño split-plot, siendo el tratamiento con quebracho el plot principal y los periodos los subplots (SAS, 1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El consumo de alimento por los animales no se vio afectado por la intervención quirúrgica; no obstante, algunos animales no consumieron todo el alimento que les fue ofrecido y, por ello, los resultados se expresan, además de en términos absolutos, en relación con la materia seca ingerida (MSI).

Los resultados relativos a la producción diaria de saliva por una glándula parótida para ambas especies, para cada dieta y para cada periodo de medida se representan en la figura 1. En la figura 2 figuran los resultados relativos a la producción de saliva en relación con la materia seca ingerida.

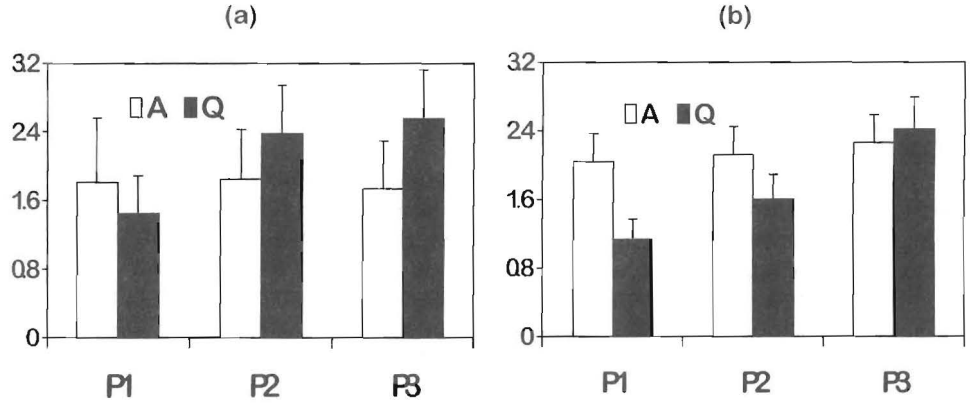


Figura 1.- Producción diaria de saliva (ml/día) de una glándula parótida en el ganado caprino **(a)** y en el ganado ovino **(b)**.

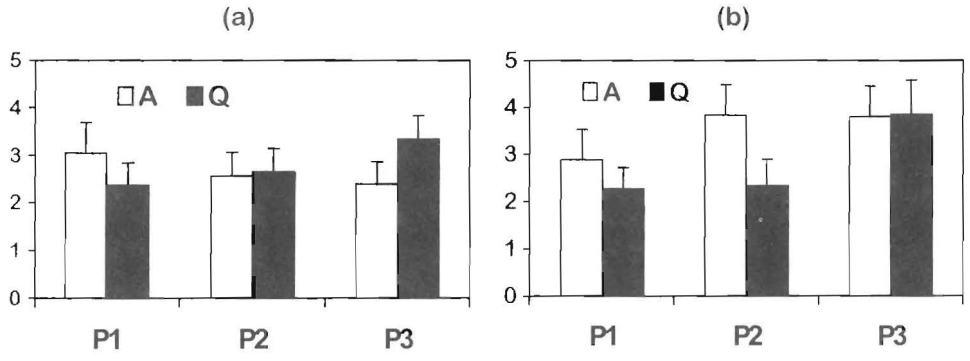


Figura 2.- Producción de saliva (ml/g MSI) en de una glándula parótida en el ganado caprino **(a)** y en el ganado ovino **(b)**.

La evolución de la respuesta en la producción de saliva fue similar en ambas especies. La cantidad de saliva producida no se vio afectada por el periodo experimental cuando los animales recibieron la dieta control (A).

El consumo de la dieta con quebracho (Q) determinó un descenso en la producción de saliva en el periodo 1, es decir inmediatamente después de ser introducido en la dieta, en ambas especies, aunque este efecto sólo alcanzó el nivel de significación estadística en el caso del ganado ovino (1135 vs 2041 ml/d, $P<0,05$).

En el periodo 2 (30 días después de la inclusión de quebracho en la dieta), la producción de saliva se incrementó en ambas especies animales, alcanzando, en el caso del ganado caprino, valores superiores a los de los animales que recibían la dieta control; sin embargo, ni las diferencias entre dietas dentro del periodo ni las diferencias entre periodos alcanzaron el nivel de significación estadística.

En el periodo 3 (60 días después de la inclusión de quebracho en la dieta), se observó un nuevo incremento en la producción de saliva, alcanzando ambas especies animales valores superiores, aunque no estadísticamente diferentes, a los de la dieta control. En el caso de las ovejas, la cantidad de saliva producida por los animales que recibían la dieta Q fue superior en este periodo que durante el periodo 1 (2418 vs. 1135 ml/d, $P<0,05$).

Cuando la producción de saliva se expresó en relación con la materia seca ingerida por los animales (Figura 2) se observó la misma tendencia que cuando se consideró en términos absolutos; no obstante, las diferencias tendieron a reducirse, por lo que en ningún caso alcanzaron el nivel de significación estadística.

Estos resultados parecen indicar una capacidad de respuesta en la producción de saliva parotídea por ambas especies animales a la inclusión de taninos en la dieta. Esta respuesta, si va a acompañada de cambios en la composición de la saliva, podría ser un mecanismo importante para neutralizar los efectos negativos de los taninos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Austin, P.J.; Sucher, L.A.; Robbins, C.T. y Hagerman, A.E. 1989. Tannins-binding protein in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *Journal of Chemical Ecology*, **15**,1335-1346.

González, J.S., López, S., Carro, M.D. y Valdés, C. 1997. Efecto de la forma física de la dieta sobre la producción de saliva en el ganado ovino y caprino. *ITEA. Vol. Extra* **18**, 22-24.

Mehansho,H.; Buttler,L.G. y Carloson,D.M. 1987. Dietary tannins and salivary prolin-rich protein; interactions, induction and defense mecanisms. *Annual Review of Nutrition* **7**:423-440.

SAS Institute 1993. *SAS companion for the Microsoft Windows Environment, version 6.* SAS Institute Inc., Cary, NC.

EFECTO DE LA INFUSIÓN DE QUEBRACHO EN EL RUMEN DE OVEJAS SOBRE LA DEGRADACIÓN RUMINAL Y LA DIGESTIBILIDAD

G. Ramos, P. Frutos, G. Hervás, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón
Estación Agrícola Experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080 León

INTRODUCCIÓN

Los taninos condensados o proantocianidinas son compuestos cuya estructura y concentración determinan los efectos que pueden ejercer sobre la digestibilidad de la dieta de los herbívoros (Barry y McNabb, 1999). En los rumiantes podrían inhibir tanto las enzimas de los microorganismos ruminales como las del propio animal. Sin embargo, se ha observado que existen cepas bacterianas resistentes a los taninos condensados (Jones *et al.*, 1994), lo que sugiere que el rumen podría llegar a adaptarse a estos compuestos, sin que su capacidad de fermentación se viera muy mermada.

El objetivo de este trabajo, por lo tanto, fue estudiar cómo afecta la dosificación de dos cantidades distintas de quebracho (taninos condensados) en el rumen, durante un periodo de siete semanas, a la degradación ruminal y a la digestibilidad de la dieta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 9 ovejas adultas de raza Merina (52,6 ±3,01 kg PV) fistuladas en el rumen, que se alojaron en jaulas individuales y se alimentaron con heno de alfalfa deshidratado (MS= 926 g/kg; PB= 151 g/kg MS; FND= 438 g/kg MS; LAD= 86,9 g/kg MS), distribuido en dos tomas iguales (a las 9.00 h y a las 18.00 h), a 1,2 veces mantenimiento. A todos los animales se les dosificó diariamente, antes de la comida de la mañana, y a través de la cánula ruminal, 300 ml de una solución de metanol al 0,08%, que contenía las siguientes dosis de quebracho comercial (*Roy Wilson Dickson. Ltd.* Reino Unido):

Grupo "Control" (3 ovejas):	0,0 g de quebracho/ kg PV (placebo)
Grupo "$Q_{0,6}$" (3 ovejas):	0,6 g de quebracho/ kg PV
Grupo "$Q_{1,2}$" (3 ovejas):	1,2 g de quebracho/ kg PV

Los días 0 (control), 3, 7, 14, 21, 28 y 42 del experimento, se estimó la degradación ruminal del heno de alfalfa con el método de las bolsas de nailon. Dos bolsas por oveja se introdujeron en el rumen, después de dosificar el quebracho pero antes de la comida de la mañana, y se incubaron durante 24 horas. La prueba *in vivo* de estimación de la digestibilidad se llevó a cabo en la última semana del experimento (desde el día 43 hasta el 50), para lo cual las ovejas permanecieron en jaulas metabólicas. Las heces se recogieron diariamente durante cinco días sucesivos (después de pasar dos días para la adaptación de los animales a las jaulas), se pesaron y se tomaron alícuotas del 10% que se guardaron a -20 °C para su posterior liofilización y análisis químico. Las muestras de los cinco días se mezclaron para obtener una única muestra por animal.

Para los análisis químicos, todas las muestras se molieron a 1 mm. Los contenidos de materia seca (MS) y de nitrógeno (N) se analizaron según los procedimientos de la AOAC (1995). Las determinaciones de la fibra neutro detergente (FND) y lignina ácido detergente (LAD) se realizaron mediante la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970), con la modificación que comprende la utilización del analizador de fibra Ankom$^{200®}$.

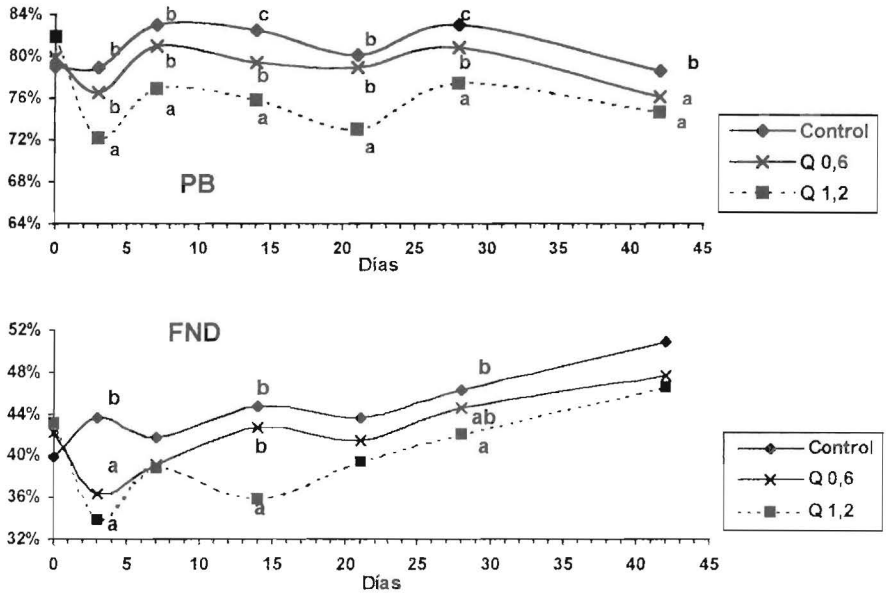
Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el paquete estadístico SAS

(SAS, 1989).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La desaparición de MS, tras las incubaciones ruminales, en el grupo de ovejas dosificadas con la dosis más alta de quebracho ($Q_{1,2}$), fue inferior ($P<0,05$) a la de los otros dos grupos, entre los cuales no hubo diferencias significativas (68,6% vs. 67,2% vs. 65,0%, para los grupos Control, $Q_{0,6}$ y $Q_{1,2}$, respectivamente; $P<0,05$). La reducción de la degradación ruminal por efecto de los taninos condensados, y la importancia que en ello tiene la dosis, es un hecho ampliamente constatado en la literatura, donde se ha señalado que esta acción parece ser debida a que los taninos condensados impiden la adhesión de los microorganismos al sustrato (McAllister *et al.*, 1994), inhiben la actividad enzimática (Bae *et al.*, 1993) y reducen el crecimiento de muchas cepas de bacterias ruminales (Nelson *et al.*, 1997).

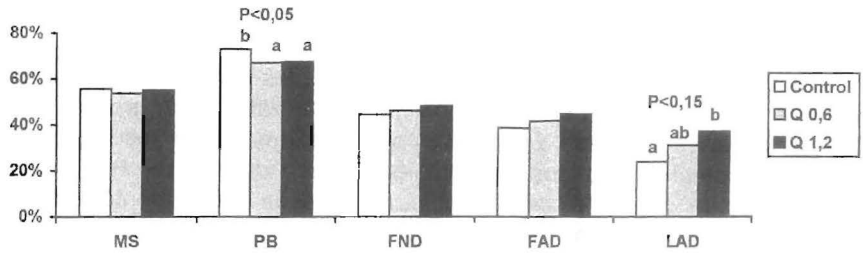
Figura 1.- Tasas de desaparición de la PB y de la FND del heno de alfalfa en el rumen de las ovejas de los tres grupos experimentales (Control, $Q_{0,6}$ y $Q_{1,2}$), en los días 0 (control), 3, 7, 14, 21, 28 y 42 del experimento.



Un comportamiento muy similar al de la desaparición de la MS se observa para la desaparición de la PB y de la FND, pero con ciertos matices que merece la pena destacar. En la incubación del día 3, la desaparición de FND disminuyó tanto en el grupo $Q_{1,2}$ como en el $Q_{0,6}$ ($P<0,05$). Sin embargo, la desaparición de PB sólo fue significativamente menor en el grupo que recibió la dosis más alta de quebracho, lo cual podría indicar que la dosis $Q_{0,6}$ fue suficiente para inhibir las enzimas celulolíticas, pero no las proteolíticas, que en principio serían más resistentes (Bae *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 1997). En cualquier caso, tanto en el grupo $Q_{0,6}$ (de forma rápida) como en el grupo $Q_{1,2}$ (lentamente), se aprecia una recuperación de los valores de desaparición de FND. Bae y colaboradores (1993) observaron que determinadas cepas de bacterias pueden compensar la inhibición, por taninos condensados, de las enzimas celulolíticas extracelulares aumentando la producción de enzimas ligadas a la membrana. En el caso de la degradación de la PB, aunque la dosis necesaria para la inhibición de las bacterias proteolíticas parece, inicialmente,

más elevada, la capacidad de recuperación parece también más lenta que en el caso de la degradación de la fibra. De cualquier modo, los resultados sugieren que existen bacterias ruminales, tanto proteolíticas como celulolíticas, que continúan su actividad si la concentración de taninos no es muy elevada (Jones *et al.*, 1994).

Figura 2.- Digestibilidad de la MS, la PB, la FND, la FAD y la LAD del heno de alfalfa (%).



En la figura 2 se presentan los datos de las pruebas *in vivo* de digestibilidad. Como se observa, los dos grupos tratados con quebracho presentaron una digestibilidad aparente de la PB menor que la del grupo Control ($P<0,05$). Numerosos autores han publicado que una de las pruebas más evidentes de que los taninos disminuyen la digestibilidad de los alimentos, es el incremento en la excreción fecal de nitrógeno a medida que se aumenta el contenido de taninos en la dieta. Sin embargo, la situación real es más compleja. Aunque es cierto que el quebracho pudo haber inhibido no solo la degradación ruminal de la proteína, sino también la actividad de las proteasas intestinales (Silanikove *et al.*, 1994), el incremento del nitrógeno fecal puede responder a un aumento de la excreción de proteínas de origen endógeno (proteínas salivares, enzimas digestivas, mucus o células de la mucosa), más que a una disminución de la cantidad de proteína de la dieta absorbida (Dawson *et al.* 1999).

La tendencia ($P<0,15$) a que en el grupo $Q_{1,2}$ la digestibilidad de la LAD fuera mayor que en el grupo Control, pudo deberse a que el quebracho favoreció una mayor densidad de los microorganismos ruminales con mayor capacidad para tolerar fenoles, y más eficaces en la degradación de la pared celular lignificada, como sugiere Silanikove (2000) que puede suceder en las cabras.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación financiado por la CICYT (AGF98-0874).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. 1995. *Association of Official Analytical Chemist.* Washington D.C.

Bae, H.D.; McAllister, T.A.; Yanke, L.J.; Cheng, K.J.; Muir, A.D. 1993. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59: 2132.

Bae, H.D.; Yanke, I.J.; McAllister, T.A.; Forsberg, C.W.; Cheng, K.J. 1994. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.*, 3: 200.

Barry, T.N.; McNabb, W.C. 1999. *Br. J. Nutr.*, 81: 263-272.

Dawson, J.M.; Buttery, P.J.; Jenkins, D.; Wood, C.D.; Gill, M. 1999. *J. Sci. Food Agric.*, 79: 1423.

Goering, M.K.; Van Soest, P.J. 1970. *Agr. Handb.*, nº 379, USDA, Washington. USA.

Jones, G.A.; McAllister, T.A.; Muir, A.D.; Cheng, K.-J. 1994. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 1374.

McAllister, T.A.; Bae, H.D.; Jones, G.A.; Cheng, K.-J. 1994. *J. Anim. Sci.*, 72: 3004.

Nelson, K.E.; Pell, A.N.; Doane, P.H.; Giner-Chavez, B.I.; Schofield, P. 1997. *J. Chem. Ecol.*, 23: 1175.

S.A.S. 1989. SAS/STAT®. User's Guide Int. (Ver. 6, 4th Ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Silanikove, N. 2000. *Small Rumin. Res.*, 35: 181.

Silanikove, N.; Nitsan, Z.; Perevolotsky, A. 1994. *J. Agric. Food Chem.*, 42: 2844

EFECTO DEL TRATAMIENTO DE HENO DE ALFALFA CON QUEBRACHO SOBRE SU DIGESTIBILIDAD EN EL GANADO OVINO

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

Los taninos condensados son, posiblemente, los compuestos secundarios de las plantas más estudiados en nutrición animal. Se trata de un grupo complejo de polifenoles capaces de unirse a proteínas, polisacáridos y otras macromoléculas. La formación de complejos taninos-macromoléculas provoca, entre otros efectos, una disminución de la digestibilidad de los nutrientes de los alimentos con elevado contenido de taninos (Silanikove *et al.*,1996). Sin embargo, algunas especies de animales herbívoros han desarrollado mecanismos de adaptación, tanto a nivel oral como ruminal, que les permiten contrarrestar en mayor o menor medida este efecto negativo (Makkar *et al.*,1995; Skene y Brooker,1995).

En este trabajo se estudia la evolución, durante 70 días, de la digestibilidad de la materia seca, proteína y fibra neutro detergente de heno de alfalfa tratado con un extracto de quebracho, planta arbustiva con un elevado contenido de taninos condensados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 ovejas de raza Merina de 49,4±4,23 kg de peso. Los animales se dividieron en dos grupos de cuatro animales cada uno y de peso similar, grupo **A** o alfalfa (control) 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 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**, el heno de alfalfa fue rociado con 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, registrando diariamente y durante periodos de siete días, las cantidades de heno consumido y de heces recogidas. 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 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.

[1] Proyecto C.I.C.Y.T AGF98-0874

Durante las pruebas de digestibilidad se recogieron muestras del heno ofrecido, de los rehusados recogidos diariamente y de las heces, que fueron desecadas en estufa a 60ºC para la determinación de la MS. Su contenido de proteína bruta (PB) fue determinado siguiendo los procedimientos descritos por la AOAC (1995). 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,1993).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adaptación de los animales a las dietas y a las condiciones experimentales fue, en general, satisfactoria, salvo en el caso de dos animales de la dieta **A** que mostraron un comportamiento errático en el consumo de alimento (especialmente en los periodos de colección) y que, por lo tanto, fueron excluidos para el análisis de los resultados.

El tratamiento del heno de alfalfa con el quebracho determinó una reducción estadísticamente significativa (P<0,001) en la digestibilidad de la MS (DMS), PB (DPB) y FND (DFND), siendo los valores medios de los correspondientes coeficientes de digestibilidad de 62,2 vs. 56,9; 63,5 vs. 55,1 y 58,8 vs. 48,2 para las dietas **A** y **Q** respectivamente.

Los valores mas bajos de los coeficientes de digestibilidad de la MS y de la FND se obtuvieron en la prueba realizada a los 10 días (**P1**) del inicio de la administración de alfalfa tratada, aumentando los valores medios progresivamente hasta alcanzar los valores más altos en el último periodo (**P3**). Los valores medios obtenidos fueron 57,9; 59,9 y 60,8 para la MS y 48,3; 55,7 y 56,3 para la FND y los periodos **P1**, **P2** y **P3**, respectivamente. Las diferencias entre periodos experimentales fue estadísticamente significativa para la digestibilidad de la MS, mientras que en el caso de la digestibilidad de la FND no hubo diferencias significativas entre los periodos **P2** y **P3**. En el caso de la PB, la evolución del valor del coeficiente de digestibilidad fue diferente, obteniéndose el valor mas bajo en el periodo **P2**, 56,9 vs. 61,2 y 59,8 para los periodos **P1** y **P3**, respectivamente.

Tabla 1.- Digestibilidades de la MS (DMS), PB (DPB) y FND (DFND) para las dos dietas experimentales y los tres periodos

	Dieta (D)	Periodos (P)			±SEM y nivel de significación		
		P1	P2	P3	D	P	D×P
DMS	**A**	**62.04** [a]	**63.06** [a]	**61.55**	±0.348	±0.280	±0.396
	Q	**53.82** [b]	**56.84** [b]	**60.08**	***	***	***
DPB	**A**	**64.34** [a]	**63.39** [a]	**62.88** [a]	±0.091	±0.389	±0.547
	Q	**58.08** [b]	**50.50** [b]	**56.75** [b]	***	***	***
DFND	**A**	**57.56** [a]	**59.97** [a]	**58.75** [a]	±0.863	±0.594	±0.840
	Q	**39.12** [b]	**51.46** [b]	**53.87** [b]	***	***	***

Valores con distintos superíndices en la misma columna difieren significativamente P<0.001).
*** (P<0.001).

Esta evolución en los valores de los coeficientes de digestibilidad fue debida a las variaciones observadas en los valores obtenidos en los animales que consumían la dieta **Q**, ya que los coeficientes de digestibilidad de la dieta **A** no se vieron afectados 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 de la MS y FND se fueron reduciendo a medida que los animales llevaban más tiempo consumiendo la dieta **Q**, de tal forma que, en el **P3** y en el caso de la MS, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (P>0,05).

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 (Blytt *et al.*,1988).

La evolución de los valores de los coeficientes de digestibilidad parece indicar una adaptación digestiva de los animales (Nelson *et al.*,1998). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Dawson *et al.* (1999), que encontraron un aumento en la digestibilidad de la MS y FND de heno de alfalfa tratado con quebracho (50g/kg MS) después 6 semanas de la alimentación de las ovejas.

Estos resultados sugieren que la ingestión continuada de quebracho determina en el ganado ovino la puesta en marcha de mecanismos adaptativos que les permite contrarrestar, parcialmente y a medio plazo, los efectos negativos de los taninos sobre la digestibilidad de los alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C. (1995). Association of Official Analiytical Chemist. Washington D.C.

Blytt, H., Guscar, T.K. y Butter, I.G. (1988). *J. Chem. Ecol.* **13**: 1455-1465.

Makkar, H.P.S., Becker, K., Abel, H. y Szegletti, C. (1995) *J. Sci. Food Agric.* **69**: 495-500.

Nelson, K.E., Thommey, M.L., Woolston, T.K., Zinder, S.H. y Pell, A.N. (1998) *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3824-3830.

SAS Institute 1993. *SAS companion for the Microsoft Windows Environment, version 6.* SAS Institute Inc., Cary, NC.

Silanikove, N., Gilboa, N., Perevolotsky, A. y Nitsan, Z. (1996) *Small Rum. Res.* **21**: 195-201.

Skene, I.K. y Brooker, J.D. (1995) *Anaerobe* **1**:321-327.

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y DEGRADABILIDAD *IN SACCO* DE HENOS DE PRADOS PERMANENTES DE LA MONTAÑA DE LEÓN EN RELACIÓN CON LA FECHA DE SIEGA[1]

S. Andrés[1], J.S. González[1], A. Calleja[1], S. López[1], C. Castrillo[2]
[1]Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 LEÓN.
[2]Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. 50013 ZARAGOZA.

INTRODUCCIÓN

En el manejo tradicional de los prados permanentes de secano de la montaña leonesa se realiza un corte que es conservado mediante la henificación en junio-julio y un aprovechamiento mediante pastoreo durante el otoño. En los prados de regadío suele llevarse a cabo un segundo corte en el otoño, bien para ser henificado o para ser consumido en pesebre. Este tipo de manejo, en particular por lo que se refiere al primer corte, está basado más en criterios cuantitativos (cantidad de MS obtenida) que en criterios cualitativos (valor nutritivo) (Rodríguez *et al.* 1996).

El valor nutritivo de los forrajes depende, entre otros factores, de su composición química y de su utilización digestiva, en particular, de su fermentación en el rumen. La composición química de la hierba de prados permanentes varía ampliamente en función del grado de desarrollo de las plantas y de la composición botánica, aumentando, por una parte, el contenido en componentes de la pared celular y reduciéndose el de proteína a medida que avanza el grado de madurez y, por otra, variando la relación gramíneas/leguminosas en función de la época de corte, con una mayor proporción de leguminosas en el corte de otoño. Estos cambios en la composición química y botánica pueden hacer variar la susceptibilidad del forraje de ser fermentado en el rumen y, con ello, su utilización digestiva.

En el presente trabajo se compara la composición química y la degradabilidad ruminal de henos de prados permanentes segados en las épocas tradicionales (finales de junio y septiembre) con la de aquellos obtenidos adelantando el primer corte a finales de mayo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de los henos que se utilizaron en el presente estudio se recogieron en heniles de distintas explotaciones agroganaderas de la montaña de León. Así se dispuso de 10 henos obtenidos en el primer corte de prados de regadío segados a finales de mayo (GRUPO 1), 10 henos obtenidos en una siega realizada en septiembre tras el rebrote estival en prados de regadío (GRUPO 2) y 10 henos precedentes de prados de secano segados en julio (GRUPO 3). Cada uno de estos henos se secó en una estufa de aire forzado a 60ºC y posteriormente se molió a 4 mm para la determinación de su degradabilidad *in sacco*. Asimismo, una muestra representativa de cada heno se molió en un molino tipo Culatti con una malla de 1 mm para poder realizar los análisis químicos, los cuales consistieron en determinar el contenido en fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido (LAD) (Goering y Van Soest, 1970), así como la proteína bruta (PB) mediante

[1] Proyecto CICYT-FEDER 1FD1997-0776

la metodología descrita por la AOAC (1995). Para la determinación de la degradabilidad *in sacco* se utilizaron tres vacas de raza Frisona, provistas de una cánula permanente en el rumen, y que recibían una ración diaria consistente en 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 nylon 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 inicialmente propuesta por Mehrez y Ørskov (1977). Los datos de desaparición de la MS se ajustaron al modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), $P = a + b\left(1 - e^{-ct}\right)$, siendo **P** la cantidad de MS desaparecida de la bolsa a un tiempo **t**, **a** es la ordenada en el origen y representa fracción soluble que desaparece inmediatamente de la bolsa, **b** es la fracción insoluble pero potencialmente degradable y **c** es el ritmo fraccional de degradación de la fracción **b**.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados relativos a la composición química de los henos. Se observa cómo los henos del GRUPO 3 (henos segados en julio y, por tanto, con un mayor grado de madurez de las plantas determinado por el retraso en la fecha de corte) muestran un mayor contenido de FND y FAD así como un menor contenido de PB que los henos del GRUPO 1 (henos recogidos en mayo).

Tabla 1. Composición química (g/kg MS)

Parámetro	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	s.e.d.
FND	$524,3^{b}$	$435,8^{c}$	$623,9^{a}$	14,3
FAD	$291,3^{b}$	$250,0^{c}$	$337,1^{a}$	10,0
LAD	$29,1^{b}$	$41,7^{a}$	$24,0^{b}$	3,1
PB	$116,1^{b}$	$138,5^{a}$	$84,0^{c}$	5,1

s.e.d. Error estándar de la diferencia
$^{a, b, c}$ Para cada parámetro, la diferencia entre medias con distintos superíndices es significativa ($p<0.05$)

También se pone de manifiesto que los henos del GRUPO 1 tienen un mayor contenido de FND y FAD que los del GRUPO 2 (henos de septiembre), lo que puede deberse a la predominancia de las gramíneas sobre las leguminosas en primavera, al contrario de lo que sucede en septiembre, lo cual queda reflejado en el mayor contenido de proteína bruta y lignina en el GRUPO 2 con respecto al resto de los grupos.

En la Tabla 2 aparecen representados los valores de los parámetros de degradación en el rumen, así como los valores medios de desaparición de la MS a las 12, 24 y 48 h de incubación. Se aprecia que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de **b** y **c** correspondientes a los henos de los distintos grupos. En el resto de parámetros existen diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tres grupos. Así observamos cómo la clasificación de los henos de acuerdo tanto con su contenido en fracción soluble **(a)**, degradabilidad potencial **(a+b)**, como con las desapariciones de la MS a las 12, 24 y 48 h es GRUPO 2> GRUPO 1 >

GRUPO 3. Este hecho pude ser debido a las diferencias en la composición química, puestas de manifiesto en la Tabla 1, determinadas por el diferente grado de madurez de las plantas y por la distinta composición botánica de los henos procedentes de las tres épocas de siega consideradas.

Tabla 2. Parámetros de degradación ruminal, degradabilidad potencial (a+b) y desapariciones (D) de MS a las 12, 24 y 48 h.

Parámetro	GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	s.e.d.
a (g/kg MS)	291^{b}	351^{a}	233^{c}	12,8
b (g/kg MS)	513^{a}	526^{a}	516^{a}	17,6
c (h^{-1})	$0,063^{a}$	$0,071^{a}$	$0,069^{a}$	0,2
a+b (g/kg MS)	804^{b}	877^{a}	749^{c}	15,3
D 12 (g/kg MS)	588^{b}	695^{a}	420^{c}	21,8
D 24(g/kg MS)	676^{b}	773^{a}	512^{c}	20,2
D 48(g/kg MS)	744^{b}	836^{a}	622^{c}	18,4

s.e.d. Error estándar de la diferencia

$^{a, b, c}$ Para cada parámetro, la diferencia entre medias con distintos superíndices es significativa ($p<0.05$)

Estos resultados parecen indicar claramente que se podría mejorar la calidad de los henos obtenidos introduciendo cambios en el manejo tradicional de los prados. Así, el adelanto de la época en la que se lleva a cabo el primer corte nos permitiría, en primer lugar, obtener un heno de mejor calidad en el mismo, facilitando, a su vez, la posibilidad de realizar un segundo o tercer corte en los prados de regadío.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist*. Virginia, USA.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agric Handbook Nº 379, USDA, Washington DC.

Mehrez, A.Z. y 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. y McDonald, 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.

Rodríguez, M., García, R., Moro, A. y Calleja, A. 1996. Los prados permanentes en la economía de la montaña leonesa. *Pastos*, **XXVI (1)**: 25-37.

DEGRADACIÓN RUMINAL DE LAS PULPAS DE CÍTRICOS Y DE MANZANA

María R. Alvir [1], J.C. Pereira [2], J. González [1] y C.A. Rodríguez [1]
(1) Dpto de Producción Animal. E.T.S.I.A. Univ. Politécnica de Madrid. 28040 Madrid
(2) Dpto de Zootecnia. Univ. Federal de Viçosa. 36570.000. Viçosa MG.BRASIL.

INTRODUCCIÓN

La aplicación de los nuevos sistemas de racionamiento nitrogenado en rumiantes tiene algunos inconvenientes como puede ser la utilización de valores medios de degradabilidad ruminal sin considerar la variación que puede existir dentro de un grupo de alimentos. Este hecho es más acentuado cuando se trata de subproductos ya que su valor nutritivo está condicionado en gran parte por el proceso de obtención.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar los aspectos químicos y el aprovechamiento a nivel ruminal de las pulpas de cítricos y de manzana.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ensayaron cuatro muestras de pulpas: dos de cítricos (PC) y dos de manzana (PM), 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 comercial 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 6,5 x 10.5 cm, con un tamaño de poro de 46 µm, conteniendo muestras de 3 g, molidas a 2 mm. Un total de 36 (PC) o 42 (PM) bolsas por alimento, repartidas en 2 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 horas, más un tiempo adicional de 72 horas para la PM. Tras la incubación, las bolsas fueron lavadas en agua fría en una minilavadora (tres lavados de 5 minutos), secadas en estufa a 80ºC durante 48 horas, pesadas y analizadas para nitrógeno Kjeldahl. La evolución de la desaparición (D) de MS y PB se modelizó individualmente para cada animal. En las muestras de PC se utilizó el modelo exponencial de Ørskov y McDonald (1979), mientras que para las muestras de PM, que presentaron un comportamiento sigmoideo, se utilizó el modelo de crecimiento de France y Thornley (1984): $D=a(a+b)/(a+be^{-ct})$. En este caso la degradabilidad efectiva (DE) se estimó mediante la ecuación: $DE=\int D\ ke^{-kt}dt$, calculándose la integración (entre 0 e ∞) por aproximación numérica. El valor asignado a k (tasa ruminal de tránsito) fue de 3,52%/h para la PC y de 2,47%/h para la PM (Pereira, 1992). La comparación entre las muestras de cada subproducto se realizó mediante análisis de varianza, considerando los corderos como bloques. En estos estudios, así como en los de regresión no lineal empleados en las modelizaciones, se utilizó el programa SAS (versión 6.12).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los diversos parámetros de composición química se indican en la tabla 1. Entre las dos muestras de PC no existieron grandes diferencias, si bien, la muestra PC1 presentó mayores contenidos en PB (8.57 vs 6.54%) y FND

(26.0 vs 22.1%) y menores valores en PB-FAD (5.40 vs 8.11%). Hay que destacar contenidos relativamente altos en PB ligada a la pared celular (media 34%) y bajos en LAD (media 3.56%). Las muestras de PM fueron bastante homogeneas entre si, siendo lo más destacable de este subproducto, el elevado contenido en pared celular (42.9% PM1 y 38.0% PM2), relativamente lignificada (media 11.2%) y el bajo contenido en PB (media 4.9%), la mitad de la cual está además asociada con la pared celular (49.8% PM1 y 53.0%PM2), principalmente con su fracción ligno celulósica.

Tabla 1. Composición química de las pulpas de cítricos (PC) y de manzana (PM).

	PC 1	PC 2	PM1	PM2
		% sobre MS		
Cenizas	6.70	7.46	1.56	1.44
Proteína bruta (PB)	8.57	6.54	4.18	4.00
Extracto etéreo (EE)	2.43	4.11	4.11	6.30
Fibra bruta (FB)	19.7	17.7	18.8	18.9
Fibra neutro detergente (FND)	26.0	22.1	42.9	38.0
Fibra ácido detergente (FAD)	18.5	16.1	26.0	23.7
Lignina ácido detergente (LAD)	3.08	4.04	10.8	11.6
		% sobre PB		
PB ligada a FND (PB-FND)	34.1	33.9	49.8	53.0
PB ligada a FAD (PB-FAD)	5.40	8.11	37.3	36.5

Los valores correspondientes a los parámetros de las cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva de la MS y PB para las pulpas se encuentran en la tabla 2.

En la utilización ruminal de la materia seca de las pulpas de cítricos se observa que las fracciones soluble y potencialmente degradable presentaron valores elevados (media 44.6% y 53.5%, respectivamente), hecho esperable teniendo en cuenta la alta proporción de contenidos celulares y el bajo contenido en lignina. La fracción indegradable fue bastante reducida (media 1.81%), con valores incluso inferiores al contenido en LAD. Entre las dos muestras se observaron diferencias significativas ($P<0.05$) para la tasa fraccional de degradación (PC1: 6.40%/h; PC2: 7.43%/h) que implicaron diferencias significativas ($P<0.05$) en la degradabilidad efectiva de la MS (PC1: 79.6%; PC2: 82.4%). Estos elevados valores son concordantes con la degradación practicamente total de los azúcares y pectinas de la pulpa, e indicativos de la alta digestibilidad de su fibra. Los valores de las cinéticas de degradación siguen la misma tendencia que la obtenida por Sauvant et al. (1985), que mencionan valores de 44 y 51.8% para las fracciones a y b, respectivamente, si bien la tasa fraccional de degradación fue más elevada (12.8%/h). En la degradación de la PB de las PC se observaron diferencias significativas ($P<0.01$) entre muestras para las fracciones soluble y potencialmente degradable. Sin embargo, estas diferencias se compensan no implicando cambios significativos en la degradabilidad efectiva (73.7% vs 74.8%). Los bajos y similares valores de la fracción indegradable (media 5.47%) demuestran que la mayor parte de la PB contenida en la fibra es degradable. Los resultados de DE son superiores al valor de 66% indicado por Verité et al. 1987, si bien estos autores asignaron una tasa de tránsito de 6.0%/h.

Las pulpas de manzana presentaron curvas de desaparición de la MS y PB correspondientes a un modelo logístico, en el cual, el parámetro c, aunque

caracteriza la velocidad de degradación, no puede considerarse como una tasa fraccional. Con referencia a la materia seca se detectaron diferencias significativas en todos los parámetros de degradación excepto para el valor c y la fracción indegradable. Esta fracción presentó valores bastante reducidos, e incluso ligeramente inferiores a los de la lignina, indicando este hecho un alto aprovechamiento potencial de la pared celular. La muestra PM2 presentó un valor superior ($P<0.01$) de la fracción soluble (47.5% vs 36.3%), compensado parcialmente por una menor ($P<0.05$) fracción potencialmente degradable (45.4% vs 53.5%), traduciéndose estas diferencias en una superior ($P<0.05$) degradación efectiva (74.9% PM2 frente a 70.7% PM1). Estos valores son inferiores al valor de 89.5% obtenido por Gasa et al. 1988 en una muestra fresca. Referente a la proteína bruta no se detectaron diferencias significativas entre las muestras para los parámetros de las cinéticas de degradación ni para la degradabilidad efectiva. Lo más destacable de estos resultados fueron los elevados valores de la fracción potencialmente degradable (71.6% PM1 y 69.6%PM2) y los bajos valores de la proteina indegradable (7.88% PM1 y 11.9% PM2), indicándonos que gran parte de las materias nitrogenadas asociadas a la pared celular son degradables. Pese a ello, los valores de degradabilidad efectiva pueden considerarse bajos (media 54.4%), ya que solo aproximadamente la mitad de la fracción b llega a degradarse, debido a la baja velocidad de degradación.

Tabla 2. Cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva (DE) de las pulpas de cítricos (PC) y manzana (PM).

	Materia seca					Proteína bruta				
	a	b	c	ind	DE	a	b	c	ind	DE
PC 1	43.6	54.2	6.40	2.17	79.6	47.9	46.5	4.10	5.52	73.7
PC 2	45.7	52.8	7.43	1.45	82.4	39.1	55.5	5.93	5.41	74.8
ESM	1.29	1.02	0.12*	0.38	0.42*	0.52**	0.52**	0.33	0.13	1.02
PM1	36.3	53.5	7.33	10.3	70.7	20.5	71.6	5.43	7.88	55.2
PM2	47.5	45.4	5.53	7.06	74.9	18.6	69.6	6.10	11.9	53.6
ESM	0.62**	1.04*	0.32	0.82	0.40*	1.19	1.01	0.66	0.97	0.79

ESM: Error estándar de la media; *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001
a= fracción soluble,%; b= fracción potencialmente degradable, %
c= tasa fraccional de degradación, %/h; ind= fracción indegradable, %

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRANCE, J. y THORNLEY, J.H.M. 1984. Mathematical models in agriculture. Butherworths, London.

GASA, J.; CASTRILLO, C.; BAUCELLS, J.D.; GUADA, J.A. 1988. Anim. Feed Sci. Tech., 25: 67-77.

ØRSKOV, E. R. y McDONALD, I. 1979. J. Agric. Sci., 92:499-503.

PEREIRA, J. C. 1992. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politecnica de Madrid. 223, pp.

SAUVANT, D.; BERTRAND, D. y GIGER, S. 1985. Anim. Feed Sci. Tech., 17: 7-23.

VERITÉ, R.; MICHALET-DOREAU, B.; CHAPOUTOT, P.; PEYRAUD, J.L. y PONCET, C. (1987). Bull. Tech., C.R.Z.V., Theix, I.N.R.A., 70: 19-74.

Trabajo financiado por la CICYT, GAN 89 / 0126

EFECTO DEL ESTADO DE MADUREZ SOBRE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LA MATERIA SECA Y PROTEÍNA BRUTA DE LA ALFALFA VERDE.

J. Faría-Mármol; María R. Alvir; C. A. Rodríguez y J. González
Dpto de Producción Animal. E.T.S I.Agrónomos.
Universidad Politécnica de Madrid. 28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

Los incrementos en el estado de madurez estan asociados con aumentos en la fibra neutro detergente (FND) y en su lignificación, lo que acarrea un aumento en la fracción indigestible del forraje, de forma que comunmente se observa una relación negativa entre la madurez y el valor nutritivo de los forrajes. A pesar de que el efecto de la madurez en la digestión de la fibra o la materia orgánica (MO) está bien documentado, los datos acerca de su efecto en la degradabilidad de la proteína bruta (PB) son todavía insuficientes. Debido a que los nuevos sistemas para estimar las necesidades nitrogenadas de los rumiantes requieren de esta información y a la gran importancia que tiene la alfalfa para la alimentación de estas especies, se planteó un experimento cuyo objetivo fue estudiar la degradación ruminal de la MS y PB de la alfalfa en diferentes estados de madurez.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se evaluaron 4 muestras de alfalfa, correspondientes a un tercer corte a edades de: 2, 4, 6 y 8 semanas (2S, 4S, 6S, y 8S). Las muestras se cosecharon entre junio y agosto de 1998 en una parcela ubicada en los campos de prácticas de la Universidad Politécnica de Madrid. En cada fecha de corte se obtuvo una muestra de 4 kg que fue inmediatamente congelada, liofilizada y molida con criba de 1mm para los análisis de composición química y 2mm para la degradación ruminal.

Se emplearon 3 corderos adultos fistulizados en rumen y alimentados con una ración de heno de alfalfa y pienso concentrado en proporción 2:1 en base a MS, distribuida, en dos comidas por día (9:00 y 17:00 h), a un nivel de 40 g MS/kg $P^{0.75}$. La estimación de las cinéticas de degradación se realizó "*in sacco*", utilizando bolsas de nylon (6,5 x 10,5 cm), con un tamaño de poro de 46 µm, conteniendo 3 g de muestra. Un total de 36 bolsas por alimento (42 para 8S), repartidas en 2 series de incubación, fueron introducidas en el rumen de los corderos durante 2, 4, 8, 15, 24 y 48 horas. En el caso de la muestra 8S se incluyó un tiempo adicional de 72 horas. Después de la incubación, las bolsas fueron lavadas en agua fría en una minilavadora de turbina (3 lavados de 5 minutos), secadas en estufa a 80ºC durante 48 horas y pesadas, determinándose la MS y PB residual. El mismo proceso de lavado se aplicó a 3 bolsas adicionales de cada muestra para obtener el valor de 0 horas. La evolución en función del tiempo de incubación de la desaparición de MS y PB de las bolsas se modelizó, individualmente para cada animal, mediante regresión no lineal, según el modelo exponencial propuesto por Ørskov y Mc Donald (1979). La degradabilidad efectiva (DE) de la PB se estimó mediante la ecuación: DE=a+(b*c/(c+k)). La tasa ruminal de tránsito (k) fue determinada para el heno de alfalfa integrante de la ración, marcado con Yb (González et al. 1998), siendo su valor medio 2,26%/h. Los resultados se sometieron a análisis de varianza, considerando los corderos como bloques, estableciendose los efectos lineales y cuadráticos para el efecto madurez mediante polinomios ortogonales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el avance de la madurez se notaron aumentos en las fracciones de FND, FAD y LAD (tabla 1) de forma similar a la señalada por Balde et al. (1993) y Elizalde et al. (1999). La concentración media de FND para las distintas edades fue semejante a la reportada por Hoffman et al. (1993). Por el contrario la concentración de PB se redujo, especialmente tras las dos primeras semanas. Para la fracción NFAD se observó el mismo comportamiento que para las fibras, mientras que la proporción de NFND presentó valores superiores para 2S y 4S (14,1% y 16,2%) que para 6S y 8S (media 11,5%).

Tabla1. Composición química (g/kgMS) de la alfalfa verde cosechada a cuatro edades diferentes.

Items	Semanas de crecimiento			
	2	4	6	8
Materia Orgánica	880	895	907	913
Proteína Bruta	270	167	149	160
FND	294	411	470	488
FAD	242	329	369	379
LAD	61	72	79	72
NFND*	14,1	16,2	11,2	11,7
NFAD*	2,1	4,6	6,5	7,3

***Porcentaje del N total**

Los resultados obtenidos para los parámetros de las cinéticas de degradación y degradabilidad efectiva de la MS y PB se exponen en la tabla 2. Para la MS, la madurez ejerció un efecto significativo sobre todos los parámetros de degradación, si bien, la evolución cuadrática observada para la tasa de degradación lo fue a nivel de tendencia (P=0,055). La fracción soluble (a) disminuyó de forma lineal y cuadrática (50,6% 2S hasta 30,2% 8S), asociándose esta variación básicamente con un incremento de la fracción indegradable (13,9% 2S hasta 36,3% 8S), al ser pequeños los cambios en la fracción potencialmente degradable (b), excepto por una reducción para el tiempo de 8 semanas de madurez. La DE de la MS disminuyó igualmente de forma lineal y cuadrática, alcanzándose entre valores extremos de madurez una diferencia de 21,9 unidades porcentuales. La reducción de la fracción soluble y el aumento de la porción de MS indegradable deben asociarse con la reducción del contenido celular y el incremento de la pared celular y de su lignificación (tabla 1). La disminución del nivel de fermentación ruminal, apreciada a través de la DE de la MS, implica una reducción de la síntesis de proteína microbiana. Esta reducción puede estimarse asumiendo que la DE de la MO es similar a la de la MS. Así, la síntesis de PB microbiana por kg de MS de alimento se reduciría en un 25% entre valores extremos de madurez.

La evolución con la madurez de las cinéticas de degradación de la PB fue similar a la apreciada para la MS, aunque con variaciones más limitadas. Los efectos en los distintos parámetros están en concordancia con estudios previos (Hoffman et al. 1993; Elizalde et al. 1999). Las variaciones detectadas pueden, también, asociarse con los cambios que la madurez induce sobre el contenido celular y los componentes de la pared celular. En particular, la evolución de la fracción indegrable, a la que se asocia extrictamente la variación de la degradabilidad efectiva de la PB, debe estar en relación con la variación de la proporción NFAD

(tabla 1). Valk et al. (1996) y Elizalde et al. (1999) afirman que los forrajes con mayor concentración de PB son los más extensamente degradados en el rumen y, como consecuencia de su mayor concentración proteica, incrementan en mayor proporción la cantidad absoluta de proteína que escapa a la fermentación ruminal. Nuestros resultados, si bien, confirman la mayor degradabilidad de la PB en las alfalfas más jóvenes, no avalan la segunda parte de su afirmación, así la cantidad de proteína que escapó a la fermentación en el rumen sería de: 28; 28,5; 31 y 29 g/kg de MS en las muestras 2S, 4S, 6S, y 8S, respectivamente.

Tabla 2. Comparación de los diferentes estados de madurez para los parámetros de las cinéticas de degradación (a, b y c), fracción indegradable (Ind) y degradabilidad efectiva (DE) de la MS y PB de la alfalfa.

Items	Semanas de crecimiento				ESM	Efectos	
	2	4	6	8		Lineal	Cuadrático
Materia Seca							
a	50,6	37,0	31,4	30,2	0,33	0,001	0,001
b	35,5	36,9	36,5	33,5	0,82	0,135	0,039
c	10,4	8,43	8,51	10,3	0,79	0,933	0,055
Ind	13,9	26,2	32,1	36,3	0,59	0,001	0,005
DE	79,5	66,1	60,0	57,6	0,48	0,001	0,001
Proteína							
a	59,5	47,4	47,1	51,5	0,52	<0,001	<0,001
b	34,2	41,1	37,4	34,8	1,49	0,781	0,019
c	17,9	14,9	13,8	16,8	2,99	0,769	0,372
Ind	6,35	11,4	15,6	13,7	1,52	0,009	0,063
DE	89,6	83,2	79,1	81,7	0,96	<0,001	0,003

ESM= error estándar de la media.

A partir de estas estimaciones, puede concluirse que el valor nitrogenado de la alfalfa para rumiantes está determinado principalmente por su potencial de síntesis microbiana, dependiente a su vez de su nivel de fermentación, reduciéndose éste marcadamente con el avance de la madurez.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALDE, A.H., VANDERSLL, J. H., ERDMAN, R. A., REEVES III, J. B., GLENN, B.P. 1993. Anim. Feed Sci. Technol. 44:29 –43.

ELIZALDE, J.; MERCHEN, N. y FAULKNER, D. 1999. J. Dairy Sci; 82: 1978-1990.

GONZÁLEZ, J.; RODRÍGUEZ, C. A.; ANDRÉS, S. G. y ALVIR, M. R. 1998. Anim. Feed Sci. Technol. 73:71-84.

HOFFMAN, P. C; SIEVERT, S. J; SHAVER, R. D; WELCH D. A y COMBS, D. K. 1993. J. Dairy Sci. 76:2632-2643.

ØRSKOV, E. R. y MCDONALD, I. 1979. J. Agric. Sci.,92: 499-503.

VALK, H; KAPPERS, I. E y TAMMINGA, S. 1996. Anim. Feed Sci. Technol. 63:73-87

Trabajo financiado por la CICYT, AGF 98-0842.

EFECTOS DE LOS ADITIVOS EN ENSILADO DE RAIGRÁS ITALIANO SOBRE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DEL NITRÓGENO

B. de la Roza[1], Adela Martínez[1], S. Modroño[1], C. Rodríguez[2], A. Argamentería [1]
[1]Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario
Apdo. 13. 33300 Villaviciosa. Asturias. e-mail: begonard@princast.es
[2]Dpto. Producción Animal. ETSIA. Univ. Politécnica.28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

El notorio incremento en la utilización de inóculos bacterianos como aditivos para ensilados está justificado por la mejora de la calidad nutritiva y fermentativa del producto final, además de su fácil aplicación y ausencia de corrosión y peligro en su manipulación. Sin embargo, el efecto de este grupo de aditivos sobre la degradabilidad ruminal, a través de las posibles transformaciones en los compuestos nitrogenados que modifican su accesibilidad por la microflora del rumen, está aún poco documentado.

El objetivo del presente trabajo fue valorar el efecto de estos aditivos sobre la degradación ruminal en ensilados de raigrás italiano.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ensilados

Durante la primavera de 1998, se elaboraron rotopacas de raigrás italiano de primer corte, después de 24 h de oreo, con ensilado directo (DIR) frente a los tratamientos con ácido fórmico comercial del 85% (3.5 l/t) (FOR) y un aditivo biológico (cepas de *Lactobacillus plantarum* y *Enterococcus faecium*, 2 l/t) (BIO). Una vez estabilizadas, estas rotopacas se evaluaron en balances metabólicos sobre 6 vacas en lactación mediante cuadrado latino 3*3 (Roza *et al.*, 1999). Resultaron así tres muestras independientes (procedentes de las tres tandas sucesivas de Agosto (AGO), Septiembre (SEP) y Octubre (OCT)) de cada ensilado directo, con fórmico y biológico (9 en total), que se utilizaron para la posterior determinación de degradabilidad *in situ* de cada una.

Animales y diseño experimental

Se emplearon tres vacas frisonas canuladas en rumen, vacías y en período seco, con dieta basal uniforme fijada a nivel de mantenimiento: Forraje:concentrado (60:40), con nivel proteico no inferior al 14% sms y suministrada en dos comidas diarias (8 y 16h). El alimento forrajero utilizado en los ensayos fue un ensilado de hierba de similares características a los forrajes a ensayar.

Se utilizó un diseño de tres animales por dos réplicas (tandas de incubación) con una sola bolsa por tiempo de incubación. La distribución de los alimentos en las tandas fue aleatoria para minimizar los errores.

Las bolsas de nylon de 10x20 cm, con un tamaño de poro de 50 µm, conteniendo 5 g de muestra liofilizada y molida a 2 mm, se introdujeron simultáneamente en el rumen después de la primera comida, excepto las correspondientes a la hora 16, que se introdujeron después de la segunda comida, durante 2, 4, 8, 16, 24, 48 y 72 horas de incubación. Inmediatamente después del período de incubación, las bolsas se introdujeron en agua helada, se enjuagaron

con agua fría hasta eliminar los restos de líquido ruminal, realizando el lavado final a máquina durante 12 min y 1 min de centrifugación. Las correspondientes a la hora 0 solamente sufrieron el proceso de lavado final. Posteriormente fueron secadas a 60ºC en estufa de aire forzado durante 24 h, pesadas y analizadas para nitrógeno Kjeldhal.

Modelización

La evolución de la desaparición de la materia seca (MS) y proteína bruta (PB), se modelizó individualmente para cada animal, según ecuaciones de tipo exponencial, logístico y general, descritas por Ørskov y McDonald (1979), Van Milgen *et al* (1991) y Van Milgen y Baumont (1995), mediante SAS (1990), así como la posterior comparación de resultados mediante análisis de varianza y = Muestra + Tanda + Vaca + Error, en el modelo seleccionado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tres modelos matemáticos presentan un buen ajuste a los valores de degradabilidad horaria obtenidos. Por ello como los modelos logístico y general requieren una aproximación matemática compleja, se asumió el modelo exponencial para el cálculo de la degradabilidad efectiva (DE) de la MS y PB ,de acuerdo con Ørskov y McDonald (1979) mediante la ecuación: DE=a+(b*c/(c+k)), donde el valor asignado a k (tasa ruminal de tránsito) fue de 0.05/hora (AFRC, 1992).

Los valores correspondientes a los parámetros de las cinéticas de degradación y DE de la MS y PB, se presentan en la tabla1.

Dentro de un mismo tratamiento, se observaron diferencias significativas en los parámetros de cinética de degradación y DE de la MS y PB entre tandas, no obstante, éstas se presentaron de forma aleatoria, lo que sugiere que puede deberse a un efecto de variabilidad entre rotopacas.

En líneas generales, el efecto del tratamiento con el aditivo biológico sobre el fraccionamiento de la MS y de la PB es significativamente superior a los efectos del ác. fórmico y del testigo, aunque este incremento de degradabilidad es mínimo y carente de importancia práctica.

Tabla1. Coeficientes de degradabilidad (a, b, c) y degradabilidad efectiva (DE) según modelo exponencial, de los ensilados de raigrás italiano ensayados.

	Materia seca				Proteína bruta			
	a	b	c	DE	a	b	c	DE
Alimento								
RIDIRAGO	46,2	46,1	5,48	70,2	74,6	21,3	5,65	85,9
RIDIRSEP	47,7	44,8	5,00	70,1	76,7	19,6	5,12	86,6
RIDIROCT	46,1	47,0	4,84	69,1	76,7	19,4	5,29	86,6
RIFORAGO	49,0	47,0	4,80	71,9	76,0	21,5	5,13	86,8
RIFORSET	44,4	48,8	4,59	67,8	76,3	20,2	4,67	86,0
RIFOROCT	49,0	43,9	4,78	70,4	81,9	15,5	3,89	88,6
RIBIOAGO	49,1	47,0	4,96	72,5	78,0	18,8	4,57	86,9
RIBIOSEP	45,2	50,2	4,66	69,3	78,7	18,4	4,14	87,0
RIBIOOCT	48,6	44,7	6,43	73,6	76,4	19,7	6,34	87,4

RI= Raigrás italiano;
DIR= Directo; FOR= Fórmico; BIO= Biológico; AGO= Agosto; SEP= Septiembre; OCT= Octubre

En concordancia con otros autores (Petit y Tremblay, 1992, Cushnahan, et al, 1995 y Gómez, 1998), el empleo de aditivos incrementa las fracciones solubles y potencialmente degradables de la MS y PB, respecto al testigo. Sin embargo, en este trabajo es el aditivo biológico el que arroja mejores resultados, aunque sin diferencias significativas con el restrictor de la fermentación. Incrementos tan pequeños con el empleo de aditivos, sugieren que, dada la alta ensilabilidad del RI, principalmente por el elevado contenido en azúcares solubles, una fermentación más o menos intensa no induce grandes diferencias en degradabilidad.

Este incremento de degradabilidad frente al uso de aditivos, concuerda con la mayor digestibilidad observada por Roza et al (1999), en estos mismos forrajes.

Este forraje, con contenidos en PB entre un 15 y 17 %, presenta un elevado porcentaje de PB soluble con mucha menor proporción de MS soluble que aporte de inmediato energía fermentable para su aprovechamiento en rumen. Ver tabla 2.

Por ello, el aditivo biológico que conservó más azúcares durante el proceso de fermentación (4,81 *vs* 2,43 y 2,68 % sobre MS), presenta claras ventajas al inducir una mejor utilización del N degradable, por un mayor aporte de energía fermentescible, lo que conlleva a un incremento en la síntesis de proteína microbiana, traducido en trabajos anteriores en un menor contenido de urea en leche (Roza et al, 1999).

Tabla 2. Comparación de la degradabilidad ruminal de materia seca y proteína bruta según aditivo (promedio de las tres muestras por aditivo)

		Directo	Fórmico	Biológico
Materia seca (%)	Total	100	100	100
	Soluble	47	47	48
	Teóricamente degradable	69,8	70,0	71,8
	Potencialmente degradable	96	96	96
Proteína bruta (%)	Total	17,10	16,51	15,27
	Soluble	13,05	12,87	11,86
	Teóricamente degradable	14,87	14,36	13,30
	Potencialmente degradable	16,41	15,85	14,66

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFRC. (1992). *Nutrition Abstracts and Reviews* (Series B), **62**, p 801.

Cushnahan, A.; Mayne, C.S. y Unsworth, E. F. (1995). Ani. Sci. **60**, 347-359.

Gómez, G.(1998). *Degradabilidad ruminal de las materias nitrogenadas de los ensilados de hierba y maiz*. Tesis Doctoral. ETSIAM. 329 pp

Ørskov, E. R. y McDonald, I. (1979). J. Agri. Sci. Camb. **92**, 499-503.

Petit, H.V. y Tremblay, G.F. (1992). J. Dairy Sci. **75,** 774-781.

Roza. B. de la, Martínez, Adela y Argamentería, A. (1999) ITEA, **20-2**, 526-528.

S.A.S. (1990). *SAS/STAT Users Guide*. Ver. 6 4 th. SAS Inst. Inc. North Carolina. USA.

Van Milgen, J. y Baumont , R. (1995). British J. Nutr., **73**, 793-807.

Van Milgen, J., Murphy, M.R. y Berger, L. L. (1991). J. Dairy Sci. **74**, 2515-2529.

EFECTO DE LA RELACIÓN GRAMÍNEAS-LEGUMINOSAS SOBRE EL TRÁNSITO DIGESTIVO DEL HENO DE VEZA-AVENA EN OVINO

J. Rubio, J. González, María R. Alvir y C.A. Rodríguez
Dpto. de Producción Animal. E.T.S.I.Agrónomos. Univ. Politécnica de Madrid.
28040 Madrid

INTRODUCCIÓN

El conocimiento del tránsito digestivo, especialmente a nivel del rumen-retículo, es un elemento de gran importancia para la adecuada estimación de la intensidad y el sitio de digestión mediante técnicas *in situ*. En el caso de raciones de forrajes, la relación gramíneas:leguminosas es un posible factor condicionante de este tránsito. Este factor tiene una incidencia directa en el caso de mezclas forrajeras como los henos veza-cereal (habitualmente avena) de uso muy extendido en la cuenca mediterránea. El objetivo de este trabajo fue establecer los efectos de la variación de la relación veza:avena en el tránsito digestivo en el conjunto de los estómagos de estos henos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó con un diseño en cuadrado latino (4 x 4), utilizando cuatro corderos fistulizados en rumen y duodeno y cuatro raciones constituidas por diferentes proporciones de henos de veza y de avena (95:5, 65:35, 35:65 y 5:95). Estas raciones se suministraron en seis comidas/día, a un nivel de ingestión de 42,5 g/kg $P^{0,75}$, durante los períodos experimentales y sus fases de adaptación previas de ocho días. La composición química (% sobre MS) de los henos de veza y de avena fue, respectivamente: materia orgánica: 87,8 y 84,9; proteína bruta: 17,3 y 7,8; fibra neutro detergente (FND): 37,3 y 50,5; fibra ácido detergente: 27,1 y 28,6; lignina ácido detergente: 5,1 y 2,3.

El tránsito digestivo se determinó mediante la técnica de dosis única, seguida de muestreo discontinuo a nivel del duodeno durante un período de 72 horas. En cada período experimental se utilizaron dos dosis (34 y 40 g de MS, respectivamente) de los residuos fibrosos de los henos de veza y de avena marcados por inmersión, según la técnica descrita por González et al. (1998), con dosis de 10 mg de Yb o de Eu por g de residuo, respectivamente. Ambos alimentos fueron ofrecidos simultáneamente a los animales 30 minutos antes de la primera comida de la mañana, siendo consumidos normalmente. Tras 1,5 horas, se introdujo a través de la cánula del rumen, una solución de Li-Cr-EDTA (200 mg Cr, disueltos en 50 ml de agua/animal) para marcar la fase líquida. La evolución en el tiempo de la concentración de los diferentes marcadores en el contenido duodenal se ajustó mediante regresión no lineal con el modelo de Grovum y Williams (1973). La cinética de tránsito de la fase sólida fue estimada ponderando los parámetros de tránsito obtenidos para los henos de veza y de avena en función de las proporciones de FND aportadas por ambos henos a la ración, ya que las partículas de la digesta ruminal estarían constituidas básicamente por las paredes celulares del forraje.

Los resultados se estudiaron mediante análisis de varianza, estableciéndose los posibles efectos lineales y cuadráticos a nivel de la dieta

mediante el uso de polinomios ortogonales. Los resultados de ambos henos se compararon además globalmente mediante un test T de muestras pareadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La disminución de la proporción de veza (o el aumento de la de avena) en la ración no ejerció ningún efecto (P > 0,05) sobre el tránsito digestivo de la fase líquida o de las partículas de veza o avena. Por el contrario, sí se apreció una reducción lineal (P = 0,028) de la tasa de tránsito secundaria (k_2) de la fase sólida, que, a su vez, dio lugar a un aumento lineal (P = 0,008) de su tiempo medio de permanencia (TMP) en el conjunto de los estómagos (Tabla 1). Considerando los valores medios para el conjunto de raciones, el efecto observado sobre k_2 se explica como consecuencia del menor valor de esta tasa para el heno de avena que para el de veza (6,71 vs 17,4%/h; error estándar de la diferencia (ESD) = 1,64; P < 0,001), lo que determina un mayor TMP para el heno de avena (39,7 vs 33,3 h; ESD = 0,88; P < 0,001). Por el contrario, no se apreciaron diferencias entre ambos henos para la tasa primaria de tránsito (k_1) (4,70 vs 4,21%/h; ESD = 0,255) o el tiempo de primera aparición del marcador (TA; 1,51 vs 1,78 h; ESD = 0,156).

Tabla 1. Efecto de las proporciones de henos de veza y avena sobre las cinéticas de tránsito digestivo[1].

		Relación veza:avena de la dieta				
Fracción	Item	95:5	65:35	35:65	5:95	E.S.M.
Heno de veza	k_1	4,67	3,89	4,20	4,09	0,408
	TA	1,67	1,50	1,84	2,11	0,158
	k_2	19,3	19,6	16,1	14,6	3,35
	TMP	30,7	34,5	33,3	34,5	2,21
Heno de avena	k_1	5,10	4,81	5,02	3,85	0,365
	TA	1,54	1,19	1,20	2,08	0,316
	k_2	6,48	5,99	5,64	8,72	1,18
	TMP	37,8	39,3	39,5	42,4	1,98
Fase sólida[2,3]	k_1	4,70	4,29	4,79	3,86	0,530
	TA	1,67	1,36	1,38	2,08	0,316
	k_2	18,4	13,8	8,56	8,94	2,62
	TMP	30,6	33,0	34,5	41,9	2,04
Fase líquida	k_1	6,59	5,87	6,13	5,90	0,395
	TA	0,43	0,64	1,10	0,64	0,201
	k_2	70,5	105,9	72,9	66,3	22,1
	TMP	17,3	19,0	19,3	19,8	0,90

K_1, K_2: Tasas fraccionales de tránsito primaria y secundaria, respectivamente (%/h); TA: tiempo de aparición (h); TMP: tiempo medio de permanencia (calculado como $(100/k_1)+(100/k_2)+TA(h)$; E.S.M.: error estándar de la media.

[1]Ningún efecto cuadrático fue significativo (P > 0,05).

[2]Estimación ponderada a partir de las cinéticas de tránsito de los henos de veza y de avena.

[3]Efecto lineal. k_2: P = 0,028; TMP: P = 0,008.

La asignación de los distintos parámetros de tránsito a compartimentos digestivos específicos no está totalmente dilucidada. Así, si bien existe concordancia de que k_1 representa la tasa de salida de digesta del rumen, la asignación de k_2 es discutida. Faichney y Griffiths (1978), basándose exclusivamente en el tránsito de la fase líquida, asocian esta tasa con el tránsito en el abomaso. Sin embargo, considerando el tránsito de partículas, esta asignación no puede mantenerse. Así, a partir de estos resultados, los tiempos de permanencia derivados de la tasa k_2 serían 14,9 y 5,75 horas para los henos de avena y de veza, respectivamente, excediendo marcadamente estos tiempos las estimaciones directas de 1,5 a 2 horas de permanencia en el abomaso (Faichney y Boston, 1983; Ellis et al., 1988). La importante diferencia entre ambos henos solo puede producirse en el rumen, siendo atribuible a una mayor dificultad en la conminución de las partículas del heno de avena, consecuencia de su superior contenido en paredes celulares y de la mayor resistencia de sus tejidos lignificados. Esta hipótesis es concordante con la observación de Ellis et al. (1988) de que k_2 representa los efectos combinados de un compartimento intraruminal de conminución y mezcla y de otros compartimentos de mezcla secundarios. Sin embargo, cuando la toma de muestras se realiza en el duodeno, k_2 correspondería básicamente al primero de los compartimentos indicados, estando representada la permanencia en el abomaso por el valor TA. Así, los valores de permanencia para este parámetro son concordantes con las estimaciones directas ya indicadas. La atribución de k_2 a un compartimento intraruminal concuerda también con las diferencias observadas entre las fases líquida y sólida, ya que, los tiempos de permanencia medios derivados de la tasa k_2 serian 1,26 horas para la difusión y mezcla de los líquidos y 8,1 horas para el lento proceso de conminución y mezcla de las particulas.

Los resultados indican que el único efecto de la variación de las proporciones de gramíneas y leguminosas en la dieta es consecuencia de las diferentes necesidades de conminución de ambos tipos de partículas. La magnitud de los tiempos de permanencia en el rumen derivados de este proceso y la importante diferencia entre veza y avena avalan el interés de utilizar modelos que consideren conjuntamente k_1 y k_2 (y no sólo k_1) para el cálculo de la degradabilidad ruminal de los forrajes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ELLIS, W. C.; WYLIE, M. J. y MATIS, J. H. 1988. Dietary-digestive interactions determining the feeding value of forages and roughages. En: Feed Science. pp. 177-299. Ed: E.R. Ørskov. Elsevier Science Publishers B. V.

FAICHNEY, G. J. y BOSTON, R. C. 1983. J. Agric. Sci. Camb., 101:575-581.

FAICHNEY, G. J. y GRIFFITHS, G. A. 1978. Br. J. Nutr., 40:71-82.

GONZÁLEZ, J.; RODRÍGUEZ, C. A.; ANDRÉS, S. G. y ALVIR, M. R. 1998. Anim. Feed Sci. Technol., 73:71-84.

GROVUM, W. L. y WILLIAMS, V. J. 1973. Br. J. Nutr., 30:231-240.

ESTIMACION DE LA SÍNTESIS DE PROTEÍNA MICROBIANA EN VACAS EN LACTACIÓN.

[2] **M. González Ronquillo,** [1] **J. Balcells,** [1] **F. Vicente y** [1] **M. Mota.**
[1]Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos.
Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50013. Zaragoza.

[2]Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, U.A.E.M.
El Cerrillo, Piedras Blancas,50090. Toluca, México.

INTRODUCCION

En los rumiantes el aporte de proteína digestible al intestino delgado es el principal factor limitante de la producción, especialmente en aquellas fases en las que se incurre en balance negativo de energía, como es el caso del vacuno lechero al principio de la lactación.

La proteína microbiana constituye el principal aporte de proteína digestible, a pesar de ello, su cuantificación y predicción es uno de los parámetros más inciertos en los nuevos sistemas de alimentación de rumiantes (Webster, 1992). La producción de proteína microbiana en el rumen se ha determinado tradicionalmente utilizando animales fistulados, discriminando en el duodeno la proteína microbiana mediante la utilización de sustancias marcadoras. La variabilidad derivada del uso de estos marcadores y la limitación en el número de animales experimentales, han determinado la variabilidad experimental de esta medida y la escasa precisión de sus correspondientes estimas.

La excreción de derivados púricos (DP) es una alternativa mas simple que permite estimar la producción microbiana en animales no intervenidos quirúrgicamente. En trabajos anteriores se han definido modelos de respuesta en bovino lechero a partir de la excreción de DP en orina y leche. En el presente trabajo los resultados derivados de dichos modelos se contrastan con aquellos obtenidos con los procedimientos convencionales.

MATERIAL Y METODOS

Tres vacas Holstein, con cánulas simples en rumen y duodeno proximal recibieron, en un diseño de cuadrado latino 3 x 3, una misma ración experimental a tres niveles : *Ad libitum* y dos niveles de restricción, 15 y 25 %, respectivamente. En la ración mixta (Forraje, 48 : Concentrado, 52) utilizada, el forraje estuvo compuesto principalmente por heno de alfalfa (0,67) y veza avena (0,22) y el concentrado por maíz (0,30), cebada (0,33) y soja (0,26). Los animales recibieron la ración en forma continua y cada periodo experimental tuvo una duración de 30 días, 15 de adaptación al nivel dietético y 15 de determinaciones experimentales. Las determinaciones consistieron en : balance de digestibilidad, duodenal y colección de orina y leche. El flujo duodenal se determinó a partir de los marcadores de flujo, Cr-EDTA para la fase líquida e Yb acetato para la fase sólida, y el flujo de proteína microbiana se determino utilizando las bases púricas (BP) como marcadores microbianos y la excreción de DP en orina y leche siguiendo los modelos propuestos por González Ronquillo (2001). El análisis de BP en el quimo y DP en orina y leche se realizaron a partir del método propuesto por Balcells et al., (1992) y Martín-Orúe et al., (1996).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los niveles de restricción fueron diseñados para no provocar cambios bruscos en los niveles de producción de leche. Sin embargo, esta respuesta fue variable con un importante componente individual. De forma que el efecto resultante de la restricción alimenticia fue compensado por la capacidad de movilización del animal obteniendo respuestas en ciertos parámetros a estudio (i.e. producción de leche), en sentido opuesto del esperado.

La digestión de MS y la MO (Tabla 1) no fueron modificados estadísticamente por el tratamiento experimental, aunque si se apreció un ligero descenso aparente que incrementó las diferencias relativas al plano de alimentación y las variaciones en la ingestión de MOD si alcanzaron relevancia estadística.

La producción de leche, fue por termino medio de 20 Kg/d y en ningún caso respondió a la restricción alimenticia, al contrario incrementó aparentemente con la restricción experimental.

En la tabla 1 se presenta también el flujo duodenal de BP, que disminuyó con la ingestión de MO aunque, las diferencias no alcanzaron significación estadística, debido a la elevada variación residual (CV = 18 %). La excreción urinaria de derivados púricos reflejó el flujo duodenal de sus precursores metabólicos, aunque en este caso las diferencias sí alcanzaron significación estadística. Estos resultados, a pesar del escaso número de animales utilizados, confirmaría la estrecha relación entre el flujo duodenal de bases púricas y la excreción urinaria de sus derivados metabólicos, fundamentalmente, la alantoína que fue el derivado púrico mayoritario y que representó prácticamente el 90 % del total.

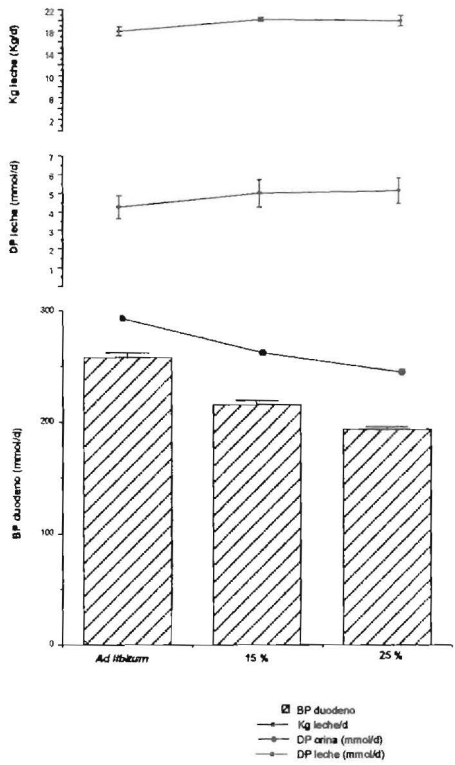
En la medida que las bases púricas sean una sustancia marcadora de la población microbiana, estos resultados confirman la validez de estos catabolítos urinarios como estimadores indirectos de los procesos de síntesis microbiana en el rumen.

Tabla 1. Ingestión de materia seca (MS), materia orgánica (MO), producción de leche (Kg/d) y excreción de derivados púricos en orina y leche. Se presentan también la estimación del flujo duodenal de N microbiano estimado a partir del flujo duodenal de bases púricas[†] o a partir de la excreción urinaria[††] o láctea[†††] de derivados púricos.

	Nivel de restricción (%)				
	0	15	25	ESM	Sig.
Ingestión MS (Kg/d)	16,38	13,92	12,99		
MODI (Kg/d)	10,5 ^{a}	8,2 ^{b}	8,0 ^{b}	0,16	**
Producción de leche (Kg/d)	18,1 ^{a}	20,3 ^{a}	20,1 ^{a}	0,96	NS
Flujo duodenal de BP (mmol/d)	258,2 ^{a}	216,1 ^{a}	193,6 ^{a}	39,31	NS
Excreción urinaria de DP (mmol/d)	290,6 ^{a}	260,1 ^{a}	243,3 ^{b}	9,65	*
Excreción láctea de DP (mmol/d)	4,3 ^{a}	5,0 ^{a}	5,2 ^{a}	0,18	T
Flujo duodenal de proteína microbiana :					
BP(Cr-Yb)†	131,5 ^{a}	123,6 ^{a}	84,1 ^{a}	31,93	NS
DP orina ††	167,5 ^{a}	160,8 ^{a}	115,4 ^{b}	15,73	*
DP leche †††	115,5^{a}	125,2 ^{a}	111,4 ^{a}	8,34	NS

Diferentes índices indican diferencia significativa (P< 0.05) entre medias.

Figura 1. Evolución del flujo duodenal de bases púricas (mmol/d), producción de leche (Kg/d) y excreción de derivados púricos en orina y leche (mmol/d) para los niveles de alimentación, *Ad libitum* y el 15 y 25 % de restricción alimenticia.



La excreción láctea de derivados púricos, representó una mínima fracción del total excretado (1,4 al 2,1 %) y no reflejó el flujo de bases púricas duodenal. La alantoína en leche constituyó también el derivado púrico mayoritario (70,8 %) aunque en este caso la excreción del ácido úrico presentó una mayor relevancia como catabolito originado en el metabolismo de la glándula (29,2%).

Tal como se presenta en la figura 1, no se apreció una evolución paralela entre la excreción de derivados púricos a través de la mama con la registrada con la excreción urinaria o el flujo duodenal de bases púricas. Contrariamente la figura 1 parece deducirse que su evolución estuvo más relacionada con la producción de leche. Ello corroboraría la excreción pasiva de DP a través de la mama (Dewhurst et al., 1996) y una cierta independencia del flujo o absorción de bases púricas a través del duodeno.

Finalmente en la tabla 1 se presentan las estimaciones obtenidas del flujo de N microbiano utilizando como referencia los extractos de bacterias aislados del fluido ruminal. Las estimas derivadas del quimo o la excreción urinaria presentan un valor y evolución similar, mientras que las estimas derivadas de la excreción láctea mostraron un comportamiento más errático.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Balcells, J., Guada, J.A., Peiró, J.M. and Parker, D.S. (1992).*J. Chromatogr.*, **575**. 153-157.

Dewhurst, R.J. Mitton, A.M., Offer, N.W., and Thomas, C.(1996). *Anim Sci* . **62**: 25-34.

González Ronquillo, M (2001). Estimación de la síntesis de proteína microbiana en el rumen a partir de la excreción de derivados úricos en vacas en lactación. *Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.*

Martín-Orúe, S.M., Dapoza, C., Balcells, J., and Castrillo, C. (1996). *Anim. Feed. Sci. Tech.* **63**: 341-346.

Webster, (1992) Recent advances in animal nutrition. Haresing, W. Cole, D.J.A.(Eds)

MODIFICACIÓN DE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE *LOLIUM PERENNE* CUANDO SE SUPLEMENTA CON DIFERENTES DOSIS DE GRASA

G. Hervás[1,2], B.A. Williams[2], H. Boer[2] y S. Tamminga[2]

[1] Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 – 24080 León (España)
[2] Animal Nutrition Group - Deparment of Animal Science. Wageningen University Marijkeweg 40, 6709 PG Wageningen (Holanda)

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se está realizando un importante esfuerzo en investigación encaminado a aumentar el contenido de ácidos grasos insaturados en la carne y la leche de los rumiantes, ya que se ha demostrado que algunos de estos compuestos poseen características anti-cancerígenas y anti-diabéticas y previenen la aparición de enfermedades cardiovasculares (Chilliard *et al.*, 2000; Kritchevsky, 2000). Entre estos ácidos grasos insaturados, cabe destacar el ácido linoleico conjugado, que se forma en el rumen por la hidrogenación microbiana de diversos ácidos grasos insaturados y cuyo contenido podría manipularse mediante la suplementación de la dieta con grasas no protegidas.

Sin embargo, su aplicación práctica se enfrentaría, en la actualidad, no sólo a la escasez de resultados acerca del efecto del aporte de grasa sobre la fermentación ruminal sino, además, a la variabilidad de la información existente. En este sentido, la literatura científica recoge tanto efectos negativos (Doreau y Chilliard, 1997) como positivos (Tamminga, 1989) de la suplementación con grasas y evidencia la necesidad de profundizar en este campo de investigación.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la suplementación de un forraje, *Lolium perenne*, con diferentes dosis de grasa (extraída de plantas de la misma especie) sobre su fermentación ruminal *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Una muestra fresca de *Lolium perenne* (MS = 199 g/kg) se utilizó para la extracción de la grasa necesaria para la suplementación. Para ello, y por duplicado, se mezclaron, en condiciones de anaerobiosis, 400 g de muestra con 3600 ml de etanol al 96% y 800 g de sulfato de sodio anhidro. La mezcla se centrifugó a 1000 × *g* y el sobrenadante se redujo hasta aproximadamente 500 ml en un evaporador de capa fina a 40°C.

El tratamiento de *L. perenne* (MS = 936 g/kg; PB = 140 g/kg MS; FND = 411 g/kg MS; FAD = 241 g/kg MS; EE = 42 g/kg MS), molido a 1 mm, se realizó por duplicado mediante la adición en anaerobiosis de 0 (Dosis 0), 150 (Dosis 1) y 300 (Dosis 2) ml de la solución de grasa extraída previamente sobre 14 g de muestra. Posteriormente, las muestras se secaron en una estufa de vacío a 40°C durante 3 horas.

Para estudiar la fermentación ruminal de las tres muestras de *L. perenne* se utilizó la técnica automática *in vitro* de producción de gas (Davies *et al*, 2000). Ocho réplicas de cada uno de los 3 alimentos (≈ 500 mg) se incubaron en el interior de botellas de 140 ml de volumen (Duran, Alemania). El líquido ruminal se recogió de 3 vacas fistuladas en el rumen que estaban en régimen de pastoreo durante el día. El inóculo se filtró a través de 4 capas de gasa y se añadió al medio de cultivo en una proporción de 1:9 (v/v). El medio de cultivo empleado fue el Medio B descrito por Lowe *et al.* (1985). Las botellas se cerraron y se introdujeron en un incubador, donde permanecieron a 39°C durante 96 horas. Al final de la prueba, en cada una de las

botellas se midió el pH, se tomaron 2 muestras para analizar la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH_3) y de ácidos grasos volátiles (AGV) y el residuo se filtró utilizando crisoles provistos de placa porosa y 10-15 ml de agua destilada caliente. A continuación, se quemaron a 550ºC para estimar la desaparición de MO (DMO).

Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo propuesto por Groot *et al.* (1996) para estimar la producción total de gas por gramo de MS incubada (A_{MS}, ml/g MS), el mayor ritmo de producción de gas (R_{max}, ml/h), el tiempo que tarda en alcanzar dicho ritmo (TR_{max}, h) y el momento en el que se alcanza la mitad de la asíntota ($t_{1/2}$, h).

El efecto de la dosis de grasa se estudió mediante análisis de varianza utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1989). Las comparaciones entre medias se realizaron utilizando el test de Tukey-HSD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La desaparición de MO y los parámetros cinéticos de producción de gas de las tres muestras de *Lolium perenne* se presentan en la tabla 1.

Tabla 1.- Desaparición de materia orgánica (DMO) y parámetros cinéticos de producción de gas (A_{MS}, R_{max}, TR_{max} y $t_{1/2}$) de *Lolium perenne* suplementado con diferentes dosis de grasa tras 96 horas de incubación.

Dosis	DMO (g/kg MS)	A_{MS} (ml/g MS)	R_{max} (ml/h)	TR_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
0	858 ± 1,63	281^{b} ± 12,9	34,5^{b} ± 1,80	2,2^{b} ± 0,25	5,0^{b} ± 0,16
1	857 ± 1,59	276^{b} ± 4,2	30,6^{c} ± 1,13	3,2^{a} ± 0,27	5,7^{a} ± 0,26
2	862 ± 1,34	308^{a} ± 14,7	40,3^{a} ± 2,87	2,2^{b} ± 0,21	4,8^{b} ± 0,29

Al contrario de lo observado por Sutton *et al.* (1983), en este trabajo la DMO no sufrió ninguna reducción estadísticamente significativa (P>0,05) debido al tratamiento con grasa, lo que sugiere que este efecto podría depender de la cantidad y tipo de grasa utilizada. La Dosis 2 aumentó de forma significativa (P<0,05) la producción total de gas (A_{MS}) y su ritmo de producción (R_{max}). La Dosis 1, por el contrario, redujo significativamente (P<0,05) el ritmo de producción de gas (R_{max}), pero aumentó el tiempo que tarda en alcanzar dicho ritmo (TR_{max}) así como el tiempo transcurrido en alcanzar la mitad de la asíntota ($t_{1/2}$).

Tabla 2.- Valores medios de pH, nitrógeno amoniacal (N-NH_3) y ácidos grasos volátiles (acético, propiónico, butírico y total) de *Lolium perenne* suplementado con diferentes dosis de grasa tras 96 horas de incubación.

Dosis	pH	N-NH_3 (mg/l)	Acético (mmol/g MS)	Propiónico (mmol/g MS)	Butírico (mmol/g MS)	Total (mmol/g MS)
0	6,66^{b} ± 0,031	389 ± 8,9	5,37 ± 0,124	2,04^{b} ± 0,049	0,94^{b} ± 0,029	9,2^{b} ± 0,20
1	6,70^{a} ± 0,039	385 ± 6,6	5,58 ± 0,115	2,06^{b} ± 0,057	0,98^{b} ± 0,031	9,5^{a} ± 0,22
2	6,69^{ab} ± 0,030	379 ± 22,1	5,51 ± 0,267	2,13^{a} ± 0,056	1,05^{a} ± 0,055	9,8^{a} ± 0,14

Tal y como figura en la tabla 2, no existieron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH_3), lo que podría indicar que la adición de grasa no modificó la degradación y síntesis de

proteína. Sin embargo, la suplementación de *L. perenne* con grasa aumentó significativamente ($P<0,05$) el valor medio de pH, lo cual podría afectar a la lipolisis (Doreau y Ferlay, 1994; 1995).

La suplementación de *L. perenne* con grasa dio lugar a una mayor concentración de AGV (9,7 *vs.* 9,2 mmol/g MS), lo cual fue debido a un aumento en la producción de ácido propiónico y de ácido butírico, ya que la concentración de ácido acético no varió significativamente ($P>0,05$). Estos cambios coinciden con los observados por Doreau y Chilliard (1997), pero es importante no olvidar que podrían depender de diversos factores, tales como la dieta basal, la cantidad y naturaleza de la grasa o incluso la especie animal.

Los resultados obtenidos en el presente experimento, aunque evidentemente preliminares, sugieren que la suplementación de *L. perenne* con grasas no afectaría negativamente al metabolismo ruminal. Esto favorece que se continúe con los trabajos de investigación encaminados a aumentar la cantidad de ácidos grasos insaturados que se puedan absorber en el intestino para aumentar su contenido en la grasa de la leche y de la carne de los rumiantes.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo G. Hervás disfrutó de una ayuda para estancias breves en el extranjero del Plan Nacional de Formación de Personal Investigador del Ministerio de Educación y Cultura (MEC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Chilliard, Y.; Ferlay, A.; Mansbridge, R.M. and Doreau, M. 2000. *Ann. Zootech.*, 49, 181-205.

Davies, Z.S.; Manson, D.; Brooks, A.E.; Griffith, G.W.; Merry, R.J. and Theodorou, M.K. 2000. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 83, 205-221.

Doreau, M. and Chilliard, Y. 1997. *Br. J. Nutr.*, 78, S15-S35.

Doreau, M. and Ferlay, A. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 45, 379-396.

Doreau, M. and Ferlay, A. 1995. *Livest. Prod. Sci.*, 43, 97-110.

Groot, J.C.J.; Cone, J.W.; Williams, B.A.; Debersaques, F.M.A. and Lantinga, E.A. 1996. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 64, 77-89.

Kritchevsky, D. 2000. *Br. J. Nutr.*, 83, 459-465.

Lowe, S.E.; Theodoruo, M.K.; Trinci, A.P.J. and Hesppel, R.B. 1985. *J. Gen. Microbiol.*, 131, 2225-2229.

SAS. 1989.SAS/STAT®. User´s Guide Int. (v. 6, 4th Ed.). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Sutton, J.D.; Knight, R.; McAllan, A.B. and Smith, R.H. 1983. *Br. J. Nutr.*, 49, 419-432.

Tamminga, S. 1989. Forage digestion as influenced by feeding fats. In: *Advances in Dairy Technology*. J. Martin (Ed.), pp. 9-19. Proceedings of the 1989 Western Canacian Dairy Seminar. University of Alberta (Australia).

INFUSIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE QUEBRACHO DURANTE 21 DÍAS EN EL RUMEN DE OVEJAS: EFECTO SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL *IN VITRO*

G. Hervás, P. Frutos, M.C. Álvarez del Pino, A.R. Mantecón y F.J. Giráldez
Estación Agrícola Experimental (CSIC) Apdo. 788 – 24080 León

INTRODUCCIÓN

En la Estación Agrícola Experimental de León se han llevado a cabo varios estudios, *in vivo* e *in sacco*, encaminados a estudiar el efecto del quebracho (producto comercial empleado comúnmente como modelo de taninos condensados, TC) sobre la fermentación ruminal (*e.g.* Frutos *et al.*, 2000; Ramos *et al.*, 2001).

A partir de los resultados obtenidos en todos esos trabajos, que confirman que los TC disminuyen la fermentación ruminal y sugieren que este efecto es dependiente de la cantidad de taninos consumida, se planteó esta prueba con dos objetivos fundamentales: 1) profundizar en el estudio del efecto de la dosis sobre la acción de los TC y 2) utilizar una técnica *in vitro* (frente a las utilizadas previamente) para realizar este tipo de estudios.

El experimento, por lo tanto, se llevó a cabo para examinar, utilizando la técnica *in vitro* de producción de gas, el efecto de la administración de diferentes dosis de quebracho en el rumen de ovejas, durante 21 días, sobre la fermentación ruminal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 ovejas de raza Merina (52,1 ± 1,77 kg PV) fistuladas en el rumen. Los animales recibieron heno de alfalfa picado (materia seca (MS) = 889 g/kg, proteína bruta (PB)= 169 g/kg MS, fibra neutro detergente (FND) = 448 g/kg MS) dos ves al día, a 1,2 veces sus necesidades de mantenimiento. Además, dispusieron en todo momento de agua y de un bloque corrector vitamínico-mineral.

Para la administración de los taninos condensados en el rumen, se disolvió quebracho comercial (*Roy Wilson Dickson Ltd.*, Reino Unido) en 400 ml de agua que contenía un 0,08% de metanol. Las dosis de quebracho utilizadas fueron las siguientes:

- Grupo Q_0 (control; 4 ovejas): 0 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_1 (4 ovejas): 0,5 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_2 (4 ovejas): 1,5 g quebracho/kg PV
- Grupo Q_3 (4 ovejas): 3 g quebracho/kg PV

Los animales de los grupos Q_0, Q_1 y Q_2 recibieron, durante 21 días, una dosis diaria antes de la administración de la comida de la mañana. Los animales del grupo Q_3 sufrieron una intoxicación aguda y tuvieron que ser retirados del experimento tras 9 días de dosificación. Los otros 12 animales permanecieron sanos a lo largo de todo el experimento.

La fermentación ruminal se estudió mediante la técnica *in vitro* de producción de gas descrita por Mauricio *et al.* (1999), los días 0 y 21 del experimento. Para ello, se incubaron tres alimentos de referencia:

- Heno de alfalfa (HA): MS = 930 g/kg, PB = 154 g/kg MS, FND = 481 g/kg MS
- Paja de cebada (PC): MS = 927 g/kg, PB = 51 g/kg MS, FND = 765 g/kg MS
- *Erica arborea* (*Ea*): MS = 937 g/kg, PB = 53 g/kg MS, FND = 479 g/kg MS, TC = 252 g de "equivalentes de quebracho"/kg MS

Muestras de cada alimento (≈ 500 mg, molidas a 1 mm) se incubaron en el interior de botellas de suero de 125 ml de volumen. De cada grupo experimental se recogieron 2 inóculos diferentes (obtenidos de 2 animales cada uno) dos horas después de la administración de quebracho en el rumen. Los inóculos se filtraron a

través de 4 capas de gasa y se añadieron al medio de cultivo (McDougall, 1948) en una proporción 1:4 (v/v). A continuación, las botellas se cerraron herméticamente y se introdujeron en un incubador, donde permanecieron a 39,5°C durante 96 horas. La producción de gas en cada una de las botellas se registró a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15, 19, 24, 30, 36, 48, 72 y 96 horas de incubación, mediante un transductor de presión.

Al final de la incubación, el residuo se filtró utilizando crisoles provistos de una placa porosa (Ø = 100-160 μm), se secó a 100°C durante 24 horas para estimar la desaparición de MS (DMS) y, posteriormente, se quemó a 550°C durante 6 horas para estimar la desaparición de MO (DMO).

Los datos de producción de gas se ajustaron al modelo descrito por France *et al.* (1993) para estimar la producción total de gas (*A*, ml), el tiempo de retraso (*L*, h), el tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (*T/2*, h) y el ritmo de producción de gas en *T/2* (*μ*, /h).

El efecto de la dosis de quebracho administrada y el día de incubación se estudiaron mediante análisis varianza utilizando el programa estadístico SAS (SAS, 1989). Las comparaciones entre medias se realizaron utilizando el test LSD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El día 0, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) en ninguno de los parámetros estudiados. Todos los datos que se presentan en la tabla 1 corresponden a los resultados del día 21 (es decir, tras 21 días de dosificación) en los grupos Q_0, Q_1 y Q_2, ya que los animales del grupo Q_3 tuvieron que ser retirados del experimento.

Tabla 1.- Desaparición de MS (DMS) y MO (DMO) y parámetros cinéticos de producción de gas (*A*, *μ*, *T/2* y *L*) del heno de alfalfa (HA), paja de cebada (PC) y *Erica arborea* (*Ea*) correspondientes a los distintos grupos experimentales (Q_0, Q_1 y Q_2) tras 96 horas de incubación y 21 días de administración de quebracho en el rumen.

Alimento	Grupo	DMS (g/kg)	DMO (g/kg MS)	*A* (ml)	*μ* (/h)	*T/2* (h)	*L* (h)
HA	Q_0	632^a	666^a	217^a	$0,057^a$	10,7	0,89
	Q_1	625^a	654^a	211^b	$0,054^a$	11,3	0,82
	Q_2	593^b	631^b	208^b	$0,048^b$	11,9	0,91
	esd	12,3	8,7	1,9	0,0025	1,35	0,150
	P	0,092	0,058	0,035	0,077	0,704	0,830
PC	Q_0	671^a	705^a	253	0,028	32,7	1,86
	Q_1	627^a	661^a	222	0,035	30,6	3,33
	Q_2	543^b	580^b	196	0,025	35,1	1,36
	esd	30,5	32,6	23,9	0,0049	4,99	0,772
	P	0,054	0,067	0,201	0,242	0,678	0,164
Ea	Q_0	352^a	371^a	99	$0,021^b$	$28,6^a$	–
	Q_1	339^b	359^{ab}	93	$0,022^b$	$26,4^a$	–
	Q_2	322^c	346^b	90	$0,029^a$	$21,6^b$	–
	esd	2,1	5,8	4,7	0,0019	1,88	–
	P	0,002	0,052	0,297	0,038	0,069	–

esd, error estándar de la diferencia.

La administración de quebracho tendió a reducir (P<0,10) la DMS y la DMO de los tres alimentos incubados. Las ovejas que recibieron la dosis más alta de

quebracho (grupo Q_2) presentaron valores inferiores a los de los otros dos grupos experimentales (Q_0 y Q_1). En este sentido, se sabe que concentraciones elevadas de TC pueden impedir la adhesión de los microorganismos ruminales al sustrato, inhibir la actividad enzimática y poseer cierta acción bactericida (Bae *et al.*, 1993; McAllister *et al.*, 1994), lo cual reduce la degradación ruminal de los alimentos.

En lo que se refiere a la producción de gas, el efecto de la administración de quebracho varió con el alimento incubado. Así, cuando se incubó PC, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P>0,10$) en ninguno de los parámetros estudiados, aunque esta ausencia de efectos probablemente esté relacionada con la elevada variación existente entre los dos inóculos ruminales. Por el contrario, cuando se incubó HA, la producción total de gas (A) fue significativamente menor ($P<0,05$) en los animales de los grupos Q_1 y Q_2 y el ritmo de producción de gas (μ) tendió a reducirse significativamente en los animales del grupo Q_2 ($P<0,10$).

Estos resultados sugieren que la actividad degradativa de los microorganismos ruminales se reduce cuando la concentración de TC es elevada. Sin embargo, cuando la concentración es menor, parece que ciertos microorganismos podrían compensar dicha inhibición mediante, por ejemplo, la producción de enzimas ligadas a la membrana, con lo que podrían llegar a adaptarse a los TC (Bae *et al.*, 1993) sin que la actividad fermentativa se viera afectada de modo muy marcado.

En la incubación de *Ea* sorprende el aumento significativo del ritmo de producción de gas (μ) y, consecuentemente, el menor valor de *T/2* en el grupo Q_2. Una explicación a estos resultados podría ser que la administración de quebracho favoreció la proliferación de bacterias ruminales que toleran los TC (Nelson *et al.*, 1998) y que presentarían una mayor capacidad para degradar forrajes más lignificados y con mayor contenido de taninos, tales como la *Ea* (Silanikove, 2000).

Los resultados de este trabajo demuestran la importancia de la dosis y la interacción con el tipo de alimento. Por otra parte, son muy similares a los obtenidos en pruebas *in sacco* e *in vivo* (Ramos *et al.*, 2001), lo cual nos permite suponer que la técnica *in vitro* de producción de gas es un método válido para este tipo de estudios.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyecto AGF98-0874). Gonzalo Hervás disfrutó de una beca FPI del Ministerio de Educación y Cultura (MEC).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bae, H.D.; McAllister, T.A.; Yanke, J.; Cheng, K.-J. and Muir, A.D. 1993. *Appl. Envirom. Microbiol.*, 59, 2132-2138.

France, J.; Dhanoa, M.S.; Theodorou, M.K.; Lister, S.J.; Davies, D.R. and Isac, D. 1993. *J. Theor. Biol.*, 163, 99-111.

Frutos, P.; Hervás, G.; Giráldez, F.J.; Fernández, M. and Mantecón, A.R. 2000. *J. Agric. Sci., Camb.*, 134, 101-108.

Mauricio, R.M.; Mould, F.L.; Dhanoa, M.S.; Owen, E.; Channa, K.S. and Theodorou, M.K. 1999. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79, 321-330.

McAllister, T.A.; Bae, H.D.; Jones, G.A. and Cheng, K.-J. 1994. *J. Anim. Sci.*, 72, 3004-3018.

McDougall, E.I. 1948. *Biochem. J.*, 43, 99-109.

Nelson, K.E.; Thonney, M.L.; Woolston, T.K.; Zinder, S.H. and Pell, A.N. 1998. *Appl. Envirom. Microbiol.*, 64, 3824-3830.

Ramos, G.; Frutos, P.; Hervás, G.; Giráldez, F.J. y Mantecón, A.R. 2001. *ITEA, Prod. Anim.*, 22.

SAS. 1989.SAS/STAT®. User's Guide Int. (Version 6, 4th Ed.). SAS Inst. Inc., Cary, NC.

Silanikove, N. 2000. *Small Rum. Res.*, 35, 181-193.

EFECTO DEL CONTENIDO DE TANINOS EN LA DEGRADACIÓN RUMINAL *IN VITRO* DE VARIOS ÓRGANOS DE ESPECIES ARBUSTIVAS

M. C. Álvarez del Pino, P. Frutos, G. Hervás, A. Gómez, F.J. Giráldez y A.R. Mantecón
Estación Agrícola experimental. CSIC. Apdo. 788. 24080. León

INTRODUCCIÓN

El contenido de taninos en las plantas puede variar desde su ausencia en muchas gramíneas hasta casi un 50% de la materia seca en algunos arbustos tropicales (Mueller-Harvey, 1999). Resultados previos sobre el contenido de taninos condensados de especies arbustivas de un puerto de montaña de León, muestran diferencias significativas entre los muestreos de verano y de invierno (Frutos et al., en prensa), lo cual sugiere que pueden existir diferencias importantes en la distribución de los taninos en los distintos órganos de la planta.

Por otra parte, existe en la actualidad una importante controversia acerca del modo de determinar y expresar el contenido de taninos de las plantas. A la ausencia de un método y un estándar de referencia aceptados internacionalmente, hay que sumarle el hecho de la diferente actividad biológica de los distintos taninos dependiendo de su peso molecular, estructura química, etc. La técnica *in vitro* de producción de gas, en ausencia o presencia de polietilenglicol (PEG), un agente químico con una elevada afinidad por los taninos que anula sus efectos, ha sido propuesta como alternativa a los análisis químicos de taninos. La diferencia entre los parámetros de producción de gas "con" y "sin" PEG es una medida de la actividad de los taninos en relación con su efecto sobre la fermentación ruminal.

Este trabajo, por lo tanto, se planteó con dos objetivos: 1) determinar el contenido de taninos de tres órganos (hojas, flores* y tallos) de 4 especies arbustivas y 2) estudiar la relación entre este contenido y su efecto sobre la fermentación ruminal.

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*), procedentes de un ecosistema pastoral de montaña cercano al puerto de San Isidro, en la provincia de León. El muestreo se realizó a lo largo del mes de junio, cuando los arbustos se encontraban en estado fenológico de floración. Para cada especie se recogieron, mediante corte con tijeras, muestras de la parte supuestamente ramoneable 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. Los contenidos de materia seca (MS) y cenizas fueron analizados según los procedimientos de la AOAC (1990). El contenido de taninos totales se determinó siguiendo el método del Folin-Ciocalteu descrito por Makkar *et al.* (1993), que emplea ácido tánico como estándar de referencia.

Para estudiar el efecto de los taninos sobre la degradación ruminal, se realizó una prueba *in vitro* de producción de gas (Mauricio *et al.*, 1999). Para ello, se pesaron, aproximadamente, 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. Cada muestra se incubó por triplicado y con dos tratamientos: "sin" y "con"

* El término órgano se utilizó en el caso de la flor para simplificar, ya que se trata del conjunto de los órganos sexuales de la planta y sus cubiertas.

añadir 1 g de PEG 6000. Como inóculo se utilizó líquido ruminal extraído, antes de la administración de la comida de la mañana, de tres 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, 96 y 120 horas de incubación mediante un transductor de presión. Los valores de presión se convirtieron a volumen de gas según una ecuación lineal de predicción y se ajustaron al modelo descrito por France *et al.* (1993) para obtener los parámetros descriptivos de la cinética de producción de gas: producción total 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

El contenido de taninos totales fue significativamente ($P<0,01$) mayor en las ericáceas que en las leguminosas, tanto en las flores (13,15 vs. 1,31 g "equivalentes de ácido tánico (AT)"/ 100 g MS), como en las hojas (13,16 vs. 1,96%) y en los tallos (6,94 vs. 0,85%). Los contenidos más elevados de taninos se encontraron en las hojas o las flores, dependiendo de la especie (ver tabla 1), y los más bajos en los tallos ($P<0,001$).

Tabla 1.- Valores medios del contenido de taninos totales (g de "equivalentes AT"/100 g MS) para cada especie y órgano y de la diferencia entre el tratamiento "sin" PEG y el tratamiento "con" PEG en la producción total de gas (dA), el tiempo de retraso (dL), el tiempo en alcanzar la mitad de la asíntota (dT/2) y el ritmo de producción de gas en T/2 (dμ).

Especie	Órgano	Taninos	d A	d μ	d T/2	D L
E. arborea	Flores	$17,65^{a}$	$-78,3^{b}$	$-0,003^{a}$	$1,6^{ab}$	0,220
	Hojas	$13,36^{b}$	$-58,2^{b}$	$-0,018^{b}$	$9,4^{a}$	0,573
	Tallos	$6,60^{c}$	$-18,6^{a}$	$0,009^{a}$	$-3,8^{b}$	-0,079
	e.s.d.	1,040	6,87	0,0045	3,04	0,3358
	P	0,0001	0,0004	0,0028	0,0138	0,2307
E. australis	Flores	$8,64^{b}$	$-57,9^{ab}$	$-0,010^{b}$	$3,3^{a}$	0,000
	Hojas	$12,96^{a}$	$-85,1^{b}$	$0,013^{a}$	$1,2^{a}$	2,573
	Tallos	$7,29^{b}$	$-35,7^{a}$	$0,016^{a}$	$12,9^{b}$	0,000
	e.s.d.	0,632	13,16	0,0073	4,57	3,5318
	P	0,0003	0,0265	0,0204	0,0242	0,0966
C. cantabricus	Flores	$1,10^{b}$	1,6	-0,002	-0,5	0,000
	Hojas	$2,50^{a}$	-5,4	-0,002	0,6	0,000
	Tallos	$0,82^{b}$	0,1	0,000	0,2	0,000
	e.s.d.	0,320	4,79	0,0035	0,56	---
	P	0,0040	0,3691	0,8101	0,2049	---
G. occidentalis	Flores	1,52	-1,9	-0,007	0,5	0,000
	Hojas	1,43	-4,0	-0,007	0,9	0,000
	Tallos	0,88	2,9	-0,001	-0,4	0,000
	e.s.d.	0,289	4,38	0,0082	0,56	---
	P	0,1348	0,3422	0,7500	0,1467	---

Para cada especie y parámetro, valores con distinto superíndice representan diferencias estadísticamente significativas.

En general, los taninos se encuentran básicamente en las hojas y en las partes de la planta (por ejemplo flores) más susceptibles de ser consumidas por los herbívoros (Robbins *et al.*, 1987).

En cuanto a la producción de gas, el efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal se vio claramente reflejado en la diferencia entre los valores obtenidos en presencia o ausencia de PEG (Makkar *et al.*, 1995). Como puede observarse en la tabla 1, las mayores reducciones en la producción total de gas (A) correspondieron a las muestras con mayor contenido de taninos (hojas y flores de *E. arborea* y *E. australis*) y apenas existió efecto cuando el contenido de taninos fue muy bajo, lo cual se refleja en la tabla 2 en un elevado coeficiente de correlación entre taninos y reducción de la producción de gas (dA; r= -0,92; P<0,001). La ausencia de efecto de la adición de PEG cuando el contenido de taninos de la planta es muy bajo ha sido también señalado por otros autores en especies muy similares a las analizadas en este estudio (Ammar *et al.*, 2000).

El efecto sobre el tiempo de retraso ("lag time") también presentó una correlación significativa con el contenido de taninos, pero en este caso la relación no fue tan clara (ver tabla 2). De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo, no se pudo demostrar ninguna relación significativa entre el contenido de taninos de las plantas y los parámetros T/2 y μ.

Tabla 2.- Coeficientes de correlación (r) y nivel de significación (p) entre el contenido de taninos totales y las diferencias entre tratamientos ("sin" PEG – "con" PEG) en los parámetros de la cinética de producción de gas.

		d A	d μ	d T/2	d L
Taninos	r	-0,9242	0,0190	0,2184	0,3999
	p	<0,0001	0,9125	0,2007	0,0157

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León y el F.S.E (Proyecto CSI2/01)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMMAR, H., LÓPEZ, S., RANILLA, M.J., OVEJERO, F.J. and GONZÁLEZ, J.S. (2000). In: *EAAP Satellite Symposium. Gas Production: Fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity.* Wageningen, The Netherlands.

A.O.A.C. (1990). *Association of official Analytical Chemist.* Washington D.C. USA.

FRANCE, J., DHANOA, M.S., THEODOROU, M.K., LISTER, S.J., DAVIES, D.R. and ISAC, D. (1993). *Journal of Theoretical Biology*, 163: 99-111.

FRUTOS, P., HERVÁS, G., RAMOS, G., GIRÁLDEZ, F.J: and MANTECÓN, A.R. *Animal Feed Science and Technology* (en prensa)

JACKSON, F.S., McNABB, W.C., BARRY, T.N., FOO, Y.L. and PETERS, J.S. (1996). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72: 483-492.

MAKKAR, H.P.S., BLÜMMEL, M. and BECKER, K. (1995). *British Journal of Nutrition*, 73: 897-913.

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.

MUELLER-HARVEY, I. (1999). *Secondary Plant Products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding.* J.C. Caygill and I. Mueller-Harvey (eds.), pp. 17-70. Nottingham University Press. U. K.

ROBBINS, C.T., HANLEY, T.A., HAGERMAN, A.E., HJELJORD, O., BAKER, D.L., SCHWARTZ, C.C. and MAUTZ, W.W. (1987). *Ecology*, 68: 98-107.

S.A.S. (1989). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

COMPOSICIÓN QUÍMICA, BOTÁNICA Y DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE FORRAJES DE PRADOS PERMANENTES EN RELACIÓN CON LA FECHA DE SIEGA[1]

O. Bochi[2,3], S. López[2], R. García[2], A. Calleja[2], M. Pérez[2] y J.S. González[2]
[2]Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 LEÓN.
[3]Departamento de Engenharia Agrícola. URI – Campus Santiago. BRASIL.

INTRODUCCIÓN

El valor nutritivo de la hierba de prados permanentes depende de su composición botánica y del grado de madurez en el momento de la siega. Existen distintas formas de modificar tanto la vegetación como el ritmo de desarrollo: mediante el control del riego, la fertilización, el sistema y momento de aprovechamiento, etc. Los prados de siega de la montaña leonesa tienen un manejo tradicional que consiste en un primer corte, generalmente para heno, en junio-julio y un segundo corte en septiembre (rebrote). La práctica de retrasar el primer corte tiene como principal objetivo que las condiciones climáticas sean más favorables para la henificación de la hierba. No obstante, este retraso supone que las plantas se encuentran en un estado fenológico más avanzado y, por consiguiente, el forraje obtenido presenta una menor calidad.

Un adelanto de la fecha del primer corte asegura una mejor calidad de la hierba obtenida y posibilita nuevas formas de utilización de los recursos cuando la calidad del forraje resulte prioritaria. Una combinación adecuada de fechas de siega puede permitir una utilización más eficiente de los recursos forrajeros que se obtienen del prado (Rodríguez, 1994; Peláez *et al.*, 1995). El objetivo de este trabajo fue estudiar la evolución de la composición química, botánica y en la digestibilidad *in vitro* del forraje en relación con la fecha del primer corte de un prado permanente de montaña.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en un prado de regadío, que tradicionalmente se aprovecha mediante siega, localizado en la montaña de la provincia de León (altitud 1010 m). El prado se dividió en ocho parcelas experimentales cada una de las cuales recibió un tratamiento de fertilización mineral distinto (Rodríguez, 1994). En cada parcela se diferenciaron, a su vez, 6 subparcelas, cada una de las cuales se segó en las siguientes fechas: 11, 18 y 25 de mayo, 1, 8 y 21 de junio (Pérez Pinto, 1991). Durante la siega se tomaron dos muestras de hierba de cada subparcela; una para la separación de los grupos de plantas de mayor interés (gramíneas y leguminosas) y otra para el estudio del valor nutritivo de la hierba, que fue secada en una estufa de aire forzado y molida en un molino tipo Culatti (1 mm). Posteriormente se determinó el contenido de proteína bruta (MAFF, 1981), y de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina (Goering y Van Soest, 1970). La digestibilidad *in vitro* de las muestras se determinó de acuerdo con la técnica propuesta por Goering y Van Soest (1970), con las modificaciones introducidas en el procedimiento ANKOM-DAISY (Ankom, 1998), de forma que la muestra se incuba en bolsitas de material sintético poroso. Para el estudio de la cinética de fermentación ruminal *in vitro* se utilizó la técnica descrita por Teodorou *et al.* (1994), basada en la determinación de la curva de producción de gas cuando una muestra de alimento se incuba en líquido ruminal diluido. A partir de la curva de producción de gas se obtuvieron estimaciones del ritmo de degradación (c) y de la

[1] Proyecto CICYT-FEDER 1FD1997-0776

degradabilidad efectiva de la materia seca (dg MS), tras ajustar los datos a un modelo exponencial mediante regresión no lineal. El líquido ruminal, utilizado en las pruebas de digestibilidad *in vitro* y de producción de gas, se obtuvo de cuatro ovejas canuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa. Para el estudio del efecto de la fecha de siega, los datos se sometieron a análisis de la varianza utilizando un diseño que incluía a la parcela experimental (7 grados de libertad) y la fecha de siega (5 grados de libertad) como fuentes de variación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la **Tabla 1** se refleja el descenso del contenido de proteína bruta (PB) y los incrementos de FND, FAD y lignina que se producen en fechas de siega cada vez más tardías, que generalmente están descritos en la bibliografía y que se relacionan con un mayor grado de madurez de las plantas (Van Soest, 1994).

Tabla 1 - Composición química y botánica de la hierba (g/kg de MS) en diferentes fechas de siega.

	11 Mayo	18 Mayo	25 Mayo	1 Junio	8 Junio	21 Junio	SED
Proteína bruta	203^{a}	181^{b}	153^{c}	145^{c}	131^{d}	98^{e}	6,4
FND	492^{a}	499^{a}	547^{b}	625^{c}	648^{c}	655^{c}	15,8
FAD	253^{a}	266^{a}	297^{b}	357^{c}	379^{d}	379^{d}	7,5
Lignina	31^{a}	34^{ab}	40^{b}	50^{c}	55^{cd}	58^{d}	3,6
Gramíneas	811^{ab}	752^{a}	752^{a}	795^{ab}	851^{bc}	905^{c}	41,7
Leguminosas	39^{ab}	58^{bc}	90^{c}	53^{abc}	38^{ab}	10^{a}	19,4

El descenso en el contenido de PB no fue significativo entre el 25 de mayo y el 1 de junio (3º y 4º corte), momento en que las gramíneas emiten las espigas y llegan a alcanzar la plena floración. Los contenidos de FND y FAD no variaron de forma significativa entre el 11 y el 18 de mayo, cuando las plantas presentaron un estado vegetativo de desarrollo, pero a partir de ese momento los contenidos de FND y FAD aumentaron al producirse el inicio del espigado (25 de mayo), momento en que las gramíneas dejan de formar nuevas hojas y se acelera el desarrollo de los tallos. El porcentaje de FND se mantiene una vez que se alcanza la plena floración (1 de junio, 4º corte), pero la FAD sigue incrementándose con la edad de la planta. El progresivo aumento de los tejidos de sostén en los tallos a medida que avanza la floración trae consigo un aumento significativo del contenido de lignina (Wilson y Hatfield 1997, García *et al.*, 1998). Los cambios de composición química de la hierba deben atribuirse en parte al estado fenológico de las plantas, pero también al paulatino aumento en la proporción de gramíneas que se observa a partir de la segunda siega.

En la Tabla 2 se muestran los valores medios de digestibilidad *in vitro* de la MS (DMS), de la pared celular (DFND), del ritmo fraccional de degradación (c) y degradabilidad efectiva de la MS en el rumen (dg MS) de la hierba en las distintas fechas de corte. Todos estos parámetros, indicativos de la utilización digestiva de los forrajes, disminuyeron cuanto más tardía fue la fecha de siega. El descenso en la digestibilidad *in vitro* de la hierba y en su ritmo de degradación ruminal fue más atenuado entre las primeras fechas de siega (las diferencias no fueron estadísticamente significativas entre el 11 y el 18 de mayo) y mucho más acelerado a partir del mes de junio. Este hecho es especialmente relevante ya que, una vez iniciado el espigado de las plantas, cualquier retraso en la siega del prado esta asociado a una disminución importante de la digestibilidad de la hierba.

Tabla 2 - Digestibilidad *in vitro* de la hierba en diferentes fechas de siega.

	11 Mayo	18 Mayo	25 Mayo	1 Junio	8 Junio	21 Junio	SED
DMS	916^{a}	908^{ab}	893^{b}	827^{c}	794^{d}	756^{e}	7,6
DFND	832^{a}	807^{ab}	789^{b}	713^{c}	676^{d}	615^{e}	11,9
c (h^{-1})	$0,062^{a}$	$0,062^{a}$	$0,055^{b}$	$0,048^{c}$	$0,045^{d}$	$0,042^{e}$	0,0008
dg MS (g/kg)	556^{a}	555^{a}	534^{b}	465^{c}	447^{cd}	435^{d}	9,3
ProdMSD (kg/ha)	1647^{a}	2487^{b}	3455^{c}	3548^{c}	3984^{c}	5834^{d}	392
ProdPB (kg/ha)	376^{a}	527^{ab}	616^{bc}	638^{bc}	670^{bc}	787^{c}	82

En la Tabla 2 también se muestran los valores medios de producción de MS digestible (MSD) y de PB para cada fecha de siega, calculados a partir de los valores de producción de MS de Pérez Pinto (1991). A pesar de los descensos en el contenido proteico y en la digestibilidad asociados a un retraso en la fecha de siega, las producciones de MSD y de PB aumentaron de forma progresiva cuanto más tardía fue la fecha de siega, como consecuencia del aumento de biomasa que se produce al dejar crecer las plantas durante un periodo de tiempo más largo. Considerando de forma aislada los resultados obtenidos para el primer corte de la hierba, parece deducirse que es oportuno retrasar la fecha de siega, ya que a pesar de la merma en calidad del forraje, se obtiene una mayor cantidad de MSD y PB. Sin embargo, sería preciso tener en cuenta el efecto que la fecha de siega en el primer corte tendría sobre la producción y calidad de la hierba en aprovechamientos posteriores del prado. Un retraso en la fecha de siega del primer corte hace que sólo pueda obtenerse, como máximo, un segundo aprovechamiento del prado, mientras que un adelanto de dicha fecha permite la realización de otros dos cortes, uno en verano y otro al inicio del otoño (Rodríguez, 1994). Estudios previos (Rodríguez, 1994; Peláez *et al.*, 1995) han demostrado que la producción total de MS es similar al realizar dos o tres cortes del prado, pero que la realización de tres cortes resulta en la obtención de un forraje de mejor calidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANKOM. 1998. Procedures for fiber and *in vitro* analysis. En: INTERNET www.ankom.com

García, R., Moro, A., Bochi, O., Calleja, A. 1998. Pastizales y prados mediterráneos de la comarca de Sayago (Zamora). 2 Valor nutritivo. *Actas S.E.E.P. XXXVIII*: 271-274.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agricultural Handbook nº 379, USDA, Washington.

MAFF. 1981. *Técnicas de análisis de suelos, vegetales y piensos*. Ed. Academia SL, León.

Peláez, R., López, S. Mantecón, A.R. y López, J. 1995. Producción de hierba en prados de regadío en relación con la programación de las fechas de siega. *Actas S.E.E.P. XXXV*: 277-280.

Pérez Pinto, M.T. 1991. *Composición botánica y bromatológica de un prado permanente de siega bajo diferentes épocas de siega y dosis de fertilización*. Tesis Doctoral, Univ. León.

Rodriguez, M. 1994. *Efecto de la fertilización mineral y frecuencia de siega sobre la producción, composición botánica y valor nutritivo de un prado de montaña*. Tesis Doctoral, Univ. León.

Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B. y France, J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, **48**: 185-197.

Van Soest, P.J. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*. Cornell Univ. Press, Ithaca.

Wilson, J.R. y Hatfield, R.D. 1997. Structural and chemical changes of cell wall types during stem development: consequences for fibre degradtion by rumen microflora. *Australian Journal of Agriculture Research* **48**: 165-180.

LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE LAS HOJAS DE ESPECIES ARBUSTIVAS: VARIACIONES ESTACIONALES Y RESPUESTA A LA ADICIÓN DE PEG[1]

H. Ammar, S. López, M.J. Ranilla, M.L. Tejido y J.S. González
Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071 LEÓN.

INTRODUCCIÓN

Las especies arbustivas pueden llegar a ser recursos forrajeros de gran importancia para la alimentación de los rumiantes en condiciones de medio difíciles. Para un uso racional de estos recursos es preciso conocer su valor nutritivo que depende, fundamentalmente, de su contenido en lignina y de la presencia de taninos, factores que afectan de forma significativa a la digestibilidad. En cuanto a la presencia de taninos, se han descrito numerosos procedimientos para su determinación en sustratos de origen vegetal. En este sentido, se ha propuesto el estudio de la actividad biológica de los taninos como indicador del valor nutritivo de los forrajes en los que el contenido de estos compuestos secundarios es alto. Recientemente se ha descrito una técnica que consiste en analizar las variaciones la digestibilidad de un sustrato como respuesta a la adición de un compuesto capaz de neutralizar los taninos (Makkar *et al.*, 1995). El compuesto más utilizado ha sido PEG 6000, por su elevada capacidad de unión a compuestos polifenólicos a un pH próximo a la neutralidad (Makkar *et al.*, 1995). Los objetivos de este trabajo fueron estudiar las variaciones estacionales en la digestibilidad *in vitro* de las hojas de cuatro especies arbustivas, y determinar la presencia de taninos en estas especies a partir de las variaciones en su digestibilidad *in vitro* como consecuencia de la adición de polietilenglicol.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado consistió en muestras de hojas de cuatro especies arbustivas: brezo (*Erica australis*), jara (*Cistus laurifolius*), roble melojo (*Quercus pyrenaica*) y rosa silvestre (*Rosa canina*), obtenidas de matorrales de la montaña de la provincia de León. Los muestreos se realizaron en 1998, coincidiendo con el final de la primavera (10 junio), mediados del verano (10 agosto) y el final del otoño (26 noviembre), momentos en los cuales las plantas se encontraban en distintas fases de desarrollo. Las muestras de hojas se obtuvieron mediante separación manual y fueron inmediatamente liofilizadas y molidas con un molino provisto con una criba de 1 mm.

La digestibilidad *in vitro* se determinó según la técnica de Goering y Van Soest (1970), con las modificaciones propuestas en el procedimiento ANKOM-DAISY (ANKOM 1998) de forma que la muestra se introduce en bolsitas de material sintético poroso (250 mg/bolsita). Las bolsitas se incuban en vasijas de fermentación (recipientes de vidrio de 4 L de capacidad) que se disponen en un incubador a 39° C y con agitación continua. En cada serie de incubación se utilizaron dos vasijas. Al inicio de las incubaciones dentro de cada vasija se introdujeron 24 bolsitas (dos bolsitas por cada muestra) y se añadieron 2 L de líquido ruminal diluido. El líquido ruminal se obtuvo de cuatro ovejas Merinas provistas de cánula ruminal y alimentadas con heno de alfalfa. El líquido ruminal se diluyó al 20% con el medio de cultivo descrito por Goering y Van Soest (1970) sin tripticasa. La preparación del medio de cultivo, la adición de líquido ruminal y la transferencia de la mezcla a las

[1] Proyectos de la Junta de Castilla y León y del F.S.E. de la Unión Europea CSI3/99 y CSI2/01

vasijas de fermentación se realizaron en condiciones de anaerobiosis y a 39° C. La vasija control contenía únicamente las 24 bolsitas y el líquido ruminal diluido, mientras que a la vasija tratamiento se añadieron, además, 25 g de PEG. Las incubaciones se prolongaron durante 48 h. Transcurrido este tiempo, se extrajeron las bolsitas, se aclararon con agua fría y se secaron. Posteriormente, los residuos de incubación se trataron con una solución de detergente neutro (100° C, 1 h) utilizando el analizador de fibra diseñado por ANKOM (ANKOM, 1998). La digestibilidad *in vitro* de la MS (DMS) se calculó como: DMS = (MS incubada - residuo FND)/MS incubada. Las pruebas de incubación con y sin PEG se repitieron en tres semanas (6 observaciones por tratamiento). El efecto de la adición de PEG sobre la DMS de cada uno de los sustratos estudiados se cuantificó como el aumento relativo en la DMS que puede ser atribuido a la adición de PEG. El nivel de significación estadística de este efecto se determinó mediante análisis de la varianza en el que las fuentes de variación fueron la adición de PEG y la serie de incubación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se representan los coeficientes de DMS de las cuatro especies arbustivas en cada una de las fechas de muestreo. Las hojas de rosa silvestre y de jara mostraron los valores más altos de DMS, mientras que los coeficientes de DMS más bajos correspondieron a las hojas del brezo. En estas tres especies, se observaron pequeñas variaciones entre periodos de muestreo en los valores de DMS. Sin embargo, en el caso de las hojas de roble melojo, la DMS de las hojas disminuyó progresivamente desde el primer muestreo en primavera hasta el último muestreo realizado en otoño. Esta evolución en los valores de DMS debe atribuirse a un aumento en el contenido de FND que fue detectado en las hojas de roble al ser mayor su grado de madurez (Ammar *et al.*, 2000b).

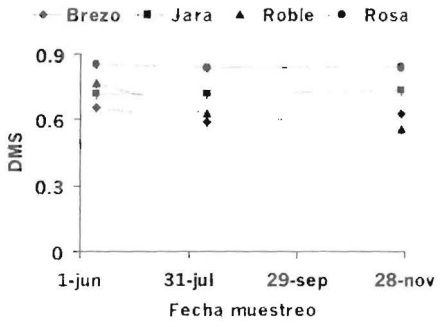


Fig.1- Variaciones estacionales en la DMS de las hojas de especies arbustivas

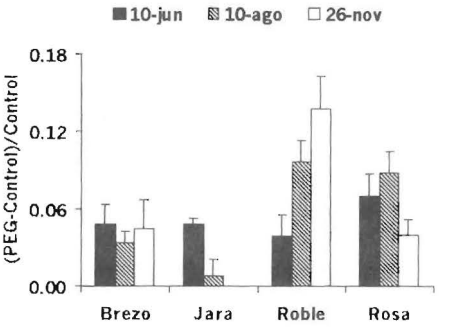


Fig. 2- Efecto de la adición de PEG sobre la DMS de las hojas de las cuatro especies arbustivas

La figura 2 ilustra el efecto de la adición de PEG sobre la DMS de las hojas de las cuatro especies arbustivas en cada fecha de muestreo. En casi todos los casos se observó un aumento numérico de la DMS como consecuencia de la adición de PEG, lo cual confirmaría que este compuesto tiene un alto poder neutralizante de los compuestos polifenólicos (Makkar *et al.*, 1995). Sin embargo, la respuesta al tratamiento con PEG fue muy variable entre las especies y los momentos de muestreo, probablemente debido a que la actividad biológica de los compuestos polifenólicos depende del tipo de los taninos y del grado de polimerización (Makkar

et al., 1995) que, a su vez, dependen de la especie arbustiva y de su gardo de madurez.

El aumento en la DMS debido a la adición de PEG fue muy pronunciado en las hojas de roble, siendo este efecto mayor cuanto mayor fue la senescencia foliar (3,9% en el caso de las hojas recogidas en junio y 13,7% para las hojas recogidas en noviembre). El aumento en la digestibilidad de las hojas de rosa fue estadísticamente significativo ($p<0,05$) en todos los casos, siendo la diferencia más amplia en verano y más reducida en otoño. La respuesta a la adición del PEG observada en las hojas de brezo fue similar en los tres muestreos con valores que oscilaron en un rango muy estrecho (de 3,4 a 4,9%), si bien la diferencia sólo fue significativa para las hojas recogidas en verano. La respuesta al tratamiento con PEG observada con las hojas de jara fue significativa en las primeras hojas recogidas tras el rebrote de primavera, mientras la adición de PEG no ocasionó un aumento en la DMS de las hojas de esta especie arbustiva recogidas en agosto y noviembre. Los resultados obtenidos sugieren que las hojas de las especies arbustivas presentan contenidos de taninos que pueden llegar a inhibir la actividad fermentativa del rumen hasta el punto de reducir considerablemente la digestibilidad de la MS. Sin embargo este efecto fue muy variable dependiendo de la especie y del grado de senescencia de las hojas. En general, el efecto de la adición de PEG sobre la DMS concuerda con la respuesta observada en la producción de gas de fermentación, aunque las diferencias en DMS entre tratamiento y control fueron de menor magnitud que las observadas en la producción de gas a las 12, 24 y 48 h de incubación *in vitro* (Ammar *et al.*, 2000a). Es preciso tener en cuenta que los complejos PEG-taninos formados precipitan y persisten en el residuo no digerido, pues son insolubles en la disolución de detergente neutro (Getachew *et al.*, 2000), enmascarando, en parte, el efecto del PEG sobre la actividad fermentativa cuando se estudia con un método gravimétrico. Aunque ambos métodos (digestibilidad *in vitro* y producción de gas) son válidos para detectar la presencia de taninos en plantas arbustivas, es preciso compararlos con otras técnicas de referencia para saber cuál de ellos permite cuantificar de una forma más aproximada la actividad biológica de estos compuestos polifenólicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ammar, H., López, S., Ranilla, M.J., Ovejero, F.J. y González, J.S. 2000a. Effects of polyethylene glycol on the ruminal fermentation of leaves collected from some Spanish browse species at different vegetative stages. *Gas production: fermentation kinetics for feed evaluation and to assess microbial activity*, pp: 74-75. Occasional Publication of BSAS, Edimburgo.

Ammar, H., Ranilla, M.J., Tejido, M.L., González, J.S. y López, S. 2000b. Variations saisonnières de la composition chimique des feuilles d'arbustes de la montagne de León (Nord Ouest de l'Espagne). *Quality and Valorization of Mountain Animal Products*, pp. 9. F.A.O./CIHEAM.

ANKOM. 1998. Procedures for fiber and *in vitro* analysis. En: INTERNET www.ankom.com

Getachew, G., Makkar, H.P.S. y Becker, K. 2000. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. *British Journal of Nutrition* **84**: 73-83.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Forage Fiber Analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. Agricultural Handbook No. 379, USDA, Washington.

Makkar, H.P.S., Blümmel, M. y Becker, K.. 1995. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. *British Journal of Nutrition* **73**: 897-913.

EFECTO DEL pH SOBRE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA Y EL FLUJO DE NUTRIENTES EN UN SISTEMA DE DOBLE FLUJO CONTINUO

P.W. Cardozo, S. Calsamiglia y A. Ferret
Dpto. de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193-Bellaterra. España

INTRODUCCIÓN

El pH en el rumen está cerca de la neutralidad. El uso de cereales e ingredientes fibrosos rápidamente fermentables en la ración, provoca una disminución en el pH ruminal y cambios en la proporción molar de AGVs frecuentemente asociados con la reducción del contenido graso de la leche. En la práctica, la reducción del pH ruminal está determinada por la fermentabilidad de la ración, la frecuencia de administración del alimento, y/o la adición de sustancias tampón (Mould et al., 1984; Kaufmann, 1976; Grant y Mertens, 1992). En consecuencia, es difícil diferenciar los efectos propios del pH ruminal de los de la dieta y el manejo de la alimentación. El objetivo de este experimento fue estudiar los efectos del pH sobre la fermentación microbiana y el flujo de nutrientes manteniendo constante el tipo de dieta y las condiciones de fermentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores (1325 ml) de flujo doble continuo desarrollado por Hoover et al. (1976). Este sistema fue diseñado para simular a través de un sistema de filtros y bombas peristálticas, los ritmos de paso diferenciales de las fracciones líquidas y sólidas típicas del rumen. En nuestro caso se mantuvieron al 10 y 5%, respectivamente. La temperatura se mantuvo constante a 38 ^{0}C. El alimento se suministró de manera semicontínua (0.66 g/10 min) mediante un comedero automático. El inóculo se extrajo de una vaca canulada, alimentada con una dieta 60:40 forraje:concentrado. Las condiciones de fermentación se controlaron mediante un PC y un PLC (FieldPoint, National intruments, USA) y el programa informático LabView (LabView, USA).

Se suministraron a cada fermentador 95 g/día de MS de una dieta 60:40 forraje: concentrado que cumplía las recomendaciones del NRC (1989) para alimentar una vaca en lactación con una producción de leche de 25 Kg/día al 4% de grasa. La dieta contenía (% MS) 28.3% de heno de alfalfa, 32.2% de ray grass, 22.2% de maíz, 9.4% soja, 4.6% melaza, 2.19% de Megalac, 0.32% de $Ca_3(PO_4)_2$, 0.26% de sal, y 0.53% de una mezcla de vitaminas y minerales.

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 dos periodos consecutivos, cada uno con 5 días de adaptación y 3 días de muestreo. En los días de muestreo, los efluyentes se mantuvieron a 5 °C. Posteriormente, las dos fracciones se mezclaron y se obtuvo una muestra representativa de 500 ml. De los 1500 ml obtenidos en los 3 días, se extrajeron 3 submuestras: una para N total (Kjeltec Auto 1030 Analyser Tecator), otra muestra (4 ml) conservada con 4 ml de HCl 0.2N para la determinación de amoniaco (Chaney y Marbach, 1962), y otra (4 ml) conservada con 1 ml de solución desproteinizante para determinar los ácidos grasos volátiles (AGV, Jouany, 1982). Otros 600 ml adicionales se liofilizaron y posteriormente se analizaron la MS, MO (AOAC, 1990),

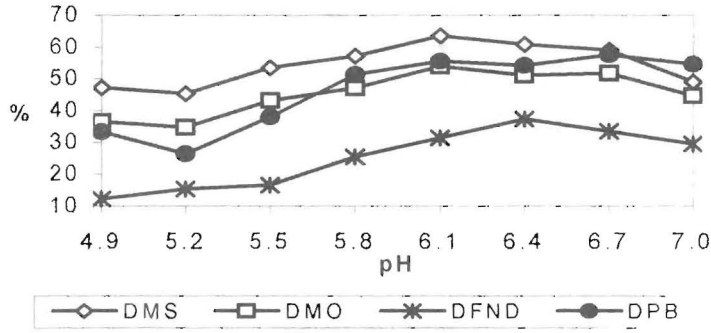
FND y FAD (Van Soest et al., 1991), y bases púricas del efluyente y de las bacterias (Balcells et al., 1992).

El diseño experimental elegido para el presente trabajo fue de bloques completamente al azar con 8 tratamientos y dos periodos, considerando el período como efecto bloque. Para determinar el efecto del pH sobre la fermentación microbiana, se realizó un análisis de contrastes lineales (L), cuadráticos (Q) y cúbicos (C) utilizando el programa GLM del SAS (1992).

RESULTADOS

La dieta contenía 17% de PB, 40% de FND, 25% de FAD y 31% de CNF. Se observaron efectos C en las digestibilidades de la materia orgánica, FND y AGV totales (figura 1).

Figura 1. Efectos del pH sobre los coeficientes de degradabilidad ruminal de la MS (DMS) de la MO (DMO) de la FND (DFND) y la PB (DPB)



La degradación de la PB (pico más bajo a pH 5.2, 26% y el más alto a pH 6.7, 58%) (figura 1), el flujo de N no amoniacal (pico más bajo a pH 7.0, 2.77 g/día, y el más alto a pH 5.5, 3.06 g/día) y el flujo de N dietario (pico más bajo a pH 6.7, 1.20 g/día y el más alto a pH 5.2, 2.03 g/día) (Tabla 1) tuvieron una evolución L. Por otro lado, la evolución del $N\text{–}NH_3$ fue C, donde el pico más alto fue a pH 7.0 (14.1 mg/dl) y el más bajo a pH 5.5 (3.19 mg/dl).

Tabla 1:Efectos del pH sobre el metabolismo del Nitrógeno.

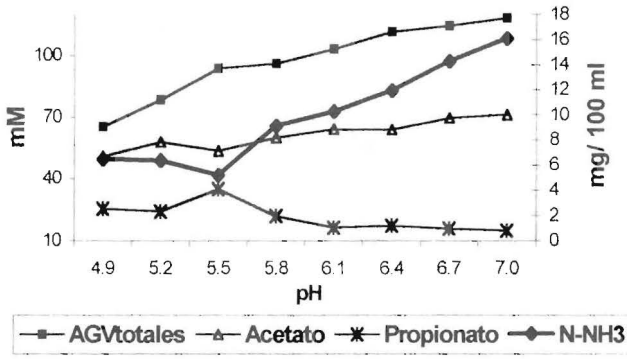
Tratamientos	4.9	5.2	5.5	5.8	6.1	6.4	6.7	7.0
N amoniacal, mg/dL [3]	4.46	4.37	3.19	7.14	8.31	9.95	12.3	14.1
Flujo de N, g/d total	3.11	3.17	3.17	3.12	3.13	3.24	3.23	3.22
· Amoniacal [3]	0.14	0.14	0.10	0.23	0.26	0.31	0.40	0.45
· No amoniacal [1]	2.97	3.04	3.06	2.89	2.87	2.93	2.83	2.77
- Microbiano [2]	1.12	1.00	1.34	1.52	1.62	1.64	1.63	1.49
- Dietario [1]	1.85	2.03	1.73	1.37	1.25	1.29	1.20	1.28
g N bacteriano/Kg MOVD*	35.99	34.5	36.5	37.9	35.15	37.64	36.97	38.93

[1] Efecto Lineal del pH ($P<0.05$)
[2] Efecto Cuadrático del pH ($P<0.05$)
[3] Efecto Cúbico del pH ($P<0.05$)
* Materia orgánica verdaderamente digerida

La evolución del flujo de N bacteriano fue Q (Tabla 1) , siendo el pico más bajo a pH 5.2 (1.00 g/día) y el más alto a pH 6.4 (1.64 g/día). El pH no afectó a la eficiencia de la síntesis de proteína microbiana (media de 36.7 g N/kg MO verdaderamente digerida).

El efecto del pH sobre la concentración de AVG totales fue Q (pico más bajo a pH 4.9, 65 mM, y el más alto a pH 7.0, 118 mM), L para la proporción molar de acetato (pico más bajo a pH 4.9, 51 mg/100ml y el más alto a pH 7.0, 71 mg/100ml) y C para el propionato (pico más bajo a pH 6.1, 17 mg/100ml y el más alto a pH 5.5, 22 mg/100ml) (figura. 2). El efecto del pH fue C para los AGV de cadenas ramificadas (el pico más alto fue a pH 7.0, 2.3%; y el más bajo a pH 5.5, .4%) y para la relación acetato propionato (el pico más alto fue a pH 7.0, 4.8; y el más bajo a pH 5.5, 1.5).

Figura 2. Efecto del pH sobre N-NH3, AGV totales, acetato y propionato.



CONCLUSIONES

Considerando que la dieta y las condiciones de fermentación se mantuvieron constantes en todos los tratamientos, el pH fue directamente responsable de los cambios observados en la fermentación.

Al disminuir el pH por debajo de 6.1, disminuyó las concentraciones de AGV totales, la proporción molar de acetato, la concentración de amoniaco, el flujo de N bacteriano, y aumentó el flujo de N dietario. Los resultados indican que la fermentación microbiana fue óptima entre pH 6.1 y 6.7.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOCA. 1990. Official methods of analysis (15th Ed.) AOAC, Arlington, VA

Balcells, J.J., et al. 1992. J Chromatogr. 575: 153

Chaney, A.L., y E.P. Marbach. 1962. Clin. Chem. 8:130

Grant, R.J., y D.R. Mertens. 1991. J. Dairy Sci. 75: 1581

Hoover, W.H., et.al. 1976. J. Anim. Sci. 43:528

Jouany, J.P. 1982. Sci. Aliments 2: 131

Kaufmann, W. 1976. Livest. Prod. Sci. 3: 103

Mould, F.L, y E.R. Ørskov. 1984. Anim. Feed Sci. Technol. 10:1

NRC, 1989. Nutrient requirements of Dairy Cattle, 6th Ed. Nat. Acad.Press. Washington, DC

Van Soest, P.J., et al. 1991. J. Dairy. Sci. 74: 3588

EFECTOS DEL NIVEL DE FIBRA Y DEL TAMAÑO DE PARTÍCULAS SOBRE LA FERMENTACIÓN RUMINAL Y EL METABOLISMO DEL N *IN VITRO*

M. Rodríguez, S. Calsamiglia, A. Ferret

Dept. de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193-Bellaterra. España

INTRODUCCIÓN

Los forrajes constituyen la fuente principal de fibra para los rumiantes. El vacuno lechero de alta producción requiere la formulación de raciones con un elevado contenido de concentrado. Además, y para estimular la ingestión de alimentos, se recomienda la administración de forrajes picados. El estudio del efecto del nivel de forraje y su tamaño de partícula *in vivo* resulta difícil, ya que se producen paralelamente cambios en la ingestión, ritmos de digestión o paso, pH ruminal y/o la población microbiana ruminal (Beever, 1993, Grant *et al.*, 1990). Los sistemas de fermentación *in vitro*, constituyen un buen modelo de simulación del funcionamiento ruminal que permiten estudiar, de forma aislada, los efectos del nivel de forraje y su tamaño de partícula, manteniendo el resto de factores constantes.

Por otra parte, es importante conocer el aporte de la proteína de origen microbiano al flujo total de proteína que llega al intestino delgado del rumiante. Las estimaciones del flujo duodenal de proteína (total, bacteriano y alimentario), se calculan normalmente utilizando bacterias asociadas con la fracción líquida (BL), a pesar de que la población bacteriana asociada a la fracción sólida (BS) representa aproximadamente un 80% de la población bacteriana total (Craig *et al.*, 1987). Este hecho puede conducir a variaciones en los cálculos e interpretación de los resultados obtenidos, especialmente cuando la cantidad de forraje o su tamaño de partícula pueden influir en la proporción de BL y BS.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del nivel de fibra (F) en la ración y el tamaño de sus partículas (P) sobre la fermentación microbiana ruminal y el metabolismo del N utilizando como referencia los valores obtenidos del análisis de BL y BS en un sistema de cultivo continuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores continuos de flujo doble (Calsamiglia *et al.* 1999), 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 bloques al azar, con arreglo factorial de tratamientos, siendo el nivel de forraje (Alto: FA=67% y Bajo: FB=39%) y tamaño de partícula (Grande: PG= $\geq$ 3-mm y Pequeño: PP= $\leq$ 1-mm), los factores principales. Las dietas fueron la combinación de los factores principales y se suministraron a razón de 95 gMS/d en 4 porciones iguales a intervalos de 6 h. La temperatura (39ºC), el pH (6.4), y la tasa de dilución de líquidos (10 %/h) y sólidos (5 %/h) se mantuvieron constantes. Durante los días de muestreo, los efluentes permanecieron a 4ºC, de donde se tomaron muestras para su posterior análisis (MS, MO, FND, FAD, ácidos grasos volátiles (AGV), nitrógeno total y amoniacal y bases púricas). Los pellet bacterianos se obtuvieron del fermentador el último día de muestreo. Las BL se obtuvieron por filtración y centrifugación diferencial, mientras que las BS se obtuvieron del residuo sólido, tras ser sometidas a varios métodos de desligamiento (Whitehouse *et al.*, 1994), filtración y centrifugación diferencial. Los

datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del SAS (1988) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS. La comparación entre grupos bacterianos se realizó mediante un test pareado (TTEST).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observó interacción entre F y P en ninguna de las variables evaluadas. Las dietas FB presentaron mayor digestibilidad aparente de la MS (44.6 vs 41.6 %) y de la MO (35.5 vs. 31.3 %) que las dietas FA ($P<0.05$). Sin embargo, la digestibilidad real de la MS, MO y fibra no se vieron afectadas por F o P. No se observó efecto de F o P sobre la concentración de $N\text{-}NH_3$ ó el flujo de N total, amoniacal o no amoniacal. El flujo de N de origen bacteriano resultó menor en las dietas FB (Tabla 1) cuando se utilizó el valor de BS en el cálculo, mientras que al utilizar BL, el flujo se vió afectado por P, siendo mayor en PP respecto a PG (Tabla 1). La eficacia de síntesis de proteína microbiana, expresada como g de N bacteriano por kg MO realmente digerida (g/kgMORD) resultó superior en FA comparado con FB cuando se utilizó BS en el cálculo, mientras que fue mayor en PP vs PG cuando se utilizó BL (Tabla 1).

Tabla 1. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre el metabolismo del nitrógeno *in vitro*.

Item	GB[1]	Nivel de Fibra		Tamaño de partícula		EE
		FA	FB	PG	PP	
$N\text{-}NH_3$, mg/100 ml		17.8	18.6	18.6	17.8	1.25
Flujo de nitrógeno, g/d						
Total		3.02	3.01	3.00	3.03	0.05
Alimentario	BL	1.32	1.42	1.46	1.29	0.07
	BS	1.17	1.41	1.35	1.23	0.10
Bacteriano	BL	1.13	1.00	0.96 [b]	1.18 [a]	0.06
	BS	1.29 [a]	1.02 [b]	1.08	1.24	0.09
Degradación PB, %	BL	51.9	46.9	46.7	52.1	2.53
	BS	57.5	47.5	50.7	54.3	3.77
Eficacia de síntesis,	BL	30.9	27.5	27.0 [b]	31.3 [a]	1.35
g/kgMORD	BS	33.3 [a]	26.8 [b]	28.8	31.3	1.33

[1] GB= considerando las bacterias asociadas a las fracciones líquida (BL) o sólida (BS).
[a,b] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

La producción total de AGV (Tabla 2) fue mayor en las dietas FB comparado con FA, dada la mayor disponibilidad de carbohidratos para la fermentación. Por otra parte, se observó una mayor proporción de acetato en FA comparado con FB ($P<0.05$). La proporción molar de ácidos grasos de cadena ramificada (isovalerato e isobutirato) fue mayor en las dietas FA comparado con las dietas FB ($P<0.05$), aunque estas diferencias no se correspondieron con diferencias en la degradación de la proteína. El tamaño de partícula también afectó al perfil de fermentación: Las dietas PP tuvieron una menor proporción de acetato y relación acetato:propionato, y una mayor proporción molar de butirato comparado con dietas de PG.

Tabla 2. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre la producción y perfil de ácidos grasos volátiles (AGV) *in vitro*.

Item	Nivel de Fibra		Tamaño de partícula		EE
	FA	FB	PG	PP	
Ácidos grasos volátiles Totales, mM	102.2 [a]	121.6 [b]	112.1	111.8	3.07
Proporción molar, %					
Acetato	63.5 [a]	58.3 [b]	63.4 [a]	58.3 [b]	1.31
Propionato	21.5	25.2	22.2	24.5	1.60
Butirato	10.9	11.8	9.9 [b]	12.8 [a]	0.49
Ramificados	1.7 [b]	2.4 [a]	2.1	2.1	0.18
Acetato:propionato	3.0	2.5	3.1 [a]	2.4 [b]	0.21

[a,b] Medias con letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$).

CONCLUSIONES

El nivel de fibra en la ración afectó a la fermentación ruminal. Dietas FB presentaron una mayor digestibilidad aparente de la MS y MO, producción total de AGV y la concentración de AGV ramificados y una menor proporción molar de acetato comparado con dietas FA. El tamaño de partícula afectó a la proporción molar de acetato y la relación acetato:propionato que fue mayor en dietas PG, y a la concentración de butirato, que fue mayor en PP. Estos efectos fueron independientes del pH, ingestión o tasas de dilución de líquidos y sólidos.

Las estimaciones del flujo de N de origen bacteriano y la eficacia de síntesis de proteína microbiana variaron en función del nivel de fibra y el tamaño de partícula. Sin embargo, el efecto fue dependiente del tipo de población bacteriana utilizada en los cálculos, lo cual puede conllevar a diferencias en la estimación y/o interpretación del flujo de nitrógeno de origen bacteriano o dietario que escapa del rumen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beever, D.E. 1993. Rumen function. In: J.M. Forbes & J. France (eds). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism CAB International. London, pp. 187-215.

Calsamiglia, S., A. Ferret, J. Plaixat, M. Devant. Effect of pH and pH fluctuations on microbial fermentation in a continuous culture system. J. Dairy Sci. 82 (Suppl. 1): P34.

Craig, W, G. Broderick, D. Bradford. 1987. Quantitation of microorganisms associated with the particulate phase of ruminal ingesta. J. Nutrition 117:56.

Grant, R.J., V-F. Colenbrander. 1990. Milk fat depression in dairy cows: role of particle size of alfalfa hay. J. Dairy Sci. 73: 1823.

Whitehouse, N.L., V.M. Olson, C.G. Schwab, W.R. Chesbro, K.D. Cunningham, T. Lycos. 1994. Improved techniques for dissociating particle associated mixed ruminal microorganisms from ruminal digesta solids. J. Anim. Sci. 72: 1335.

Statistical Analysis System. 1988. SAS user's guide. SAS Institute, Cary, NC.

ESTUDIO DEL PERFIL Y FLUJO DE AMINOÁCIDOS DE ORIGEN BACTERIANO EN UN SISTEMA DE CULTIVO CONTÍNUO. EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA Y EL TAMAÑO DE PARTÍCULA

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, 1989; NRC, 2000) incluyen las necesidades y el aporte 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), en la mayoría de los estudios realizados se utiliza la población microbiana asociada a la fracción líquida (BL) como población de referencia, ya que se asume que no existen diferencias importantes entre dichas poblaciones. Sin embargo, se han demostrado diferencias importantes entre poblaciones en su composición química y en el perfil de AA (Clark *et al.*, 1992; Martin *et al*, 1996).

Por otra parte, factores relacionados con la dieta (relación forraje : concentrado, nivel de fibra en la ración, ...) o con el tamaño de partícula, pueden afectar los patrones de fermentación ruminal (Grant *et al.*, 1990). Sin embargo, los efectos que ejercen dichos factores sobre el perfil y/o la contribución de AA de origen microbiano han sido poco estudiados. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del nivel de fibra (F) en la ración y el tamaño de sus partículas (P) sobre el perfil y flujo de AA de origen microbiano en un sistema de cultivo contínuo de flujo doble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 fermentadores contínuos de flujo doble (Calsamiglia *et al.* 1999), 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, con arreglo factorial de tratamientos, siendo el nivel de forraje (Alto: FA=67% y Bajo: FB=39%) y el tamaño de partícula (Grande: PG $\geq$ 3mm y Pequeña: PP $\leq$1 mm), los factores principales. Las dietas fueron la combinación de los factores principales y se suministraron a razón de 95 gMS/d en 4 porciones iguales a intervalos de 6 h. La temperatura (39ºC), el pH (6.4), y la tasa de dilución de líquidos (10 %/h) y sólidos (5 %/h) se mantuvieron constantes. Los pellet bacterianos se obtuvieron del contenido total del fermentador. Las BL se obtuvieron por filtración y centrifugación diferencial (1000g x 10 min, seguido de 20000g x 20 min), mientras que las BS se obtuvieron del residuo sólido, tras la aplicación de varios métodos de desligamiento (Whitehouse *et al.*, 1994), y el mismo proceso de filtración y centrifugación diferencial que las BL. En ambos grupos bacterianos se determinó el contenido en MS, N, bases púricas y perfil de AA. El flujo de AA se calculó a partir de los gAA/gMS bacteriana multiplicado por el flujo bacteriano (g/d), siendo éste último estimado a partir de la relación bases púricas:N de cada grupo bacteriano. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM del SAS (1988) y la comparación de medias se realizó mediante LSMEANS. La comparación del perfil y flujo de AA entre ambos grupos bacterianos se realizó mediante un test pareado (TTEST).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

No se observaron interacciones entre los efectos principales para ninguno de los AA, excepto para el flujo de Lys cuando se consideraron las BL. En consecuencia, los resultados se presentan según los efectos principales. Los resultados del efecto de F y P sobre el perfil y flujo de AA de origen bacteriano se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Efectos del nivel de fibra y del tamaño de partículas sobre el perfil y flujo de aminoacidos de origen microbiano estimado a partir de las bacterias asociadas a la fracción líquida (BL) o sólidas (BS).

AA	GB	Perfil AA (g/100 g AA)				Flujo AA (g/d)				EE
		Fibra		Partícula		Fibra		Partícula		
		AF	BF	PG	PP	AF	BF	PG	PP	
Thr	BL	6.08	6.26	6.19	6.14	0.45	0.34	0.35	0.44	0.09
	BS	6.07	6.12	6.01^{b}	6.19^{a}	0.54^{c}	0.36^{d}	0.39	0.51	0.05
Arg	BL	3.58^{c}	3.44^{d}	3.52	3.50	0.40^{c}	0.28^{d}	0.30	0.38	0.05
	BS	3.67^{c}	3.56^{d}	3.61	3.62	0.50^{a}	0.32^{b}	0.35	0.46	0.04
Val	BL	5.65	5.62	5.57	5.70	0.54	0.39	0.40	0.52	0.12
	BS	5.53	5.53	5.51	5.54	0.64^{c}	0.42^{d}	0.46	0.59	0.04
Met	BL	1.23	1.27	1.28	1.22	0.15	0.12	0.12	0.14	0.05
	BS	1.19	1.25	1.25	1.20	0.18	0.12	0.14	0.16	0.06
Ile	BL	4.69^{b}	4.93^{a}	4.88	4.74	0.47	0.37	0.37	0.47	0.07
	BS	4.76^{a}	4.53^{b}	4.55^{d}	4.74^{c}	0.58^{a}	0.37^{b}	0.41	0.54	0.07
Leu	BL	6.20	6.14	6.35	6.17	0.57	0.43	0.44	0.55	0.06
	BS	6.23	6.14	6.23	6.15	0.69^{c}	0.45^{d}	0.50	0.64	0.05
Phe	BL	3.48	3.52	3.54	3.46	0.35^{c}	0.26^{d}	0.27	0.33	0.04
	BS	3.52	3.46	3.52	3.47	0.43^{c}	0.28^{d}	0.31	0.39	0.03
Lys	BL	11.69^{c}	12.42^{d}	12.02	12.10	0.61	0.48	0.48	0.62	0.25
	BS	11.34	11.34	11.10^{b}	11.50^{a}	0.73^{c}	0.48^{d}	0.52	0.69	0.13
His	BL	2.58	2.47	2.56	2.49	0.12^{c}	0.08^{d}	0.09	0.11	0.06
	BS	2.68	2.55	2.62	2.61	0.15^{a}	0.09^{b}	0.10	0.14	0.08
AAE[1]	BL	45.2^{d}	46.3^{c}	45.9	45.5	3.65^{c}	2.74^{d}	2.82	3.57	0.41
	BS	45.0	44.5	44.4	45.1	4.43^{c}	2.89^{d}	3.18	4.13	0.26
AANE[2]	BL	54.8^{c}	53.7^{d}	54.1	54.5	3.46^{c}	2.49^{d}	2.62	3.34	0.41
	BS	55.9	55.5	55.6	54.9	4.25^{c}	2.84^{d}	3.14	3.94	0.26
Total	BL	-	-	-	-	7.11^{c}	5.24^{d}	5.44	6.90	0.71
	BS	-	-	-	-	8.67^{c}	5.73^{d}	6.33	8.08	1.03

[1] AAE=Incluye Thr,Arg,Val,Met,Ile,Leu, Phe, Lys, His. [2] AANE=Incluye Ala,Asp,Glu,Gly,Pro,Ser,Tyr.
[a,b] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas (P<0.05)
[c,d] Letras distintas en una misma fila indican tendencia (P<0.10)

De forma general se puede afirmar que el perfil de AAE se vió afectado poco por F o P. Sólo se observaron diferencias significativas (P<0.05) debidas a F en el porcentaje de Ile. No obstante, la interpretación de los resultados varía según el grupo bacteriano considerado en los cálculos. El porcentaje de Ile resultó superior en BF cuando se utilizó BL en los cálculos, mientras que al utilizar BS, el mayor porcentaje correspondió a AF. Asimismo, se observó una tendencia (P<0.10) hacia un mayor porcentaje de Arg y AAE (utilizando BL) en dietas AF, y de Lys en dietas BF (utilizando BL). Cuando se estudió el efecto de P sobre el perfil de AA esenciales, también se detectaron diferencias significativas (P<0.05) para Thr y Lys, y una tendencia para Ile cuando las BS se utilizaron en los cálculos.

Con respecto al flujo de AA esenciales de origen bacteriano (Tabla 1), sólo se observó efecto del nivel de fibra en la ración sobre el flujo de Ile e His (utilizando BS en los cálculos), resultando siempre mayor con AF versus BF. Igual tendencia (P<0.10) se observó para el perfil de un gran número de AAE, tal como se puede apreciar en la Tabla 1. El P no afectó al flujo de ninguno de los AA analizados, aunque si se observó interacción en el flujo de Lys (P<0.05).

Los resultados de la comparación del perfil y flujo de AA esenciales entre BL y BS se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Diferencias en el perfil (%) y flujo (g/d) de AA entre bacterias asociadas a las fracciones líquida ysólida *in vitro*.

AA	Perfil AA[1] (g/100 g AA)			Flujo AA[1] (g/d)		
	BL	BS	EE	BL	BS	EE
Thr	6.17	6.10	0.08	0.39[b]	0.45[a]	0.02
Arg	3.51[b]	3.62[a]	0.04	0.34[b]	0.41[a]	0.07
Val	5.64	5.53	0.06	0.46[b]	0.53[a]	0.03
Met	1.25	1.22	0.04	0.13[d]	0.15[c]	0.01
Ile	4.81	4.65	0.10	0.42[b]	0.47[a]	0.02
Leu	6.26	6.19	0.06	0.50[b]	0.57[a]	0.03
Phe	3.50	3.49	0.03	0.30[b]	0.35[a]	0.02
Lis	12.06[a]	11.34[b]	0.18	0.55	0.60	0.03
His	2.53	2.61	0.05	0.10[b]	0.12[a]	0.01
AAE[2]	45.7[a]	44.7[b]	0.33	3.19[b]	3.66[a]	0.19
AANE[3]	54.3[b]	55.3[a]	0.33	2.98[b]	3.54[a]	0.19
Total	100	100	--	6.16[b]	7.20[a]	0.38

[1] Considerando bacterias asociadas a las fracciones líquida (BL) ó sólida (BS).
[2] Incluye Thr; Arg; Val; Met; Ile; Leu; Phe; Lys; His.
[3] Incluye Ala; Asp; Glul; Gly; Pro; Ser; Tyr.
[ab] Letras distintas en una misma fila indican diferencias significativas ($P<0.05$)
[cd] Letras distintas en una misma fila indican tendencia ($P<0.10$)

Se observaron diferencias en el perfil de ciertos AAE (Arg, Lys, AAE y AANE) entre BL y BS. Sin embargo, las mayores diferencias se apreciaron en la estimación del flujo de AA bacteriano, donde a excepción de la Lys ($P>0.10$) y Met ($P<0.06$), el flujo de AA resultó superior cuando se utilizó BS en el cálculo, independientemente de los factores principales considerados.

CONCLUSIONES

El F y P resultaron en diferencias significativas en el perfil de determinados AAE, variando además, según la población bacteriana considerada en los cálculos. Sin embargo, la magnitud de dicha diferencia puede considerarse biológicamente poco relevante.

El flujo de AAE de origen bacteriano fue estadística y biológicamente mayor en FA, aunque la magnitud en la diferencia resultó dependiente de la población bacteriana utilizada en los cálculos. La estimación del flujo de AA de origen bacteriano resultó, en promedio, un 15.7% mayor cuando se utilizó BS versus BL, independientemente de los factores principales considerados. Por lo tanto, es importante estimar el aporte relativo de ambas poblaciones bacterianas para predecir correctamente el flujo de AA de origen bacteriano que llegana l intestino delgado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Calsamiglia, S., A. Ferret, J. Plaixat, M. Devant. J. Dairy Sci. 82 (Suppl. 1): P34.
Clark, J.H., T.H. Klusmeyer, M.R. Cameron. 1992. J. Dairy Sci. 75: 2304.
Craig, W, G. Broderick, D. Bradford. 1987. J. Nutrition 117:56.
Grant, R.J., V.F. Colenbrander, D.R. Mertens. 1990. J. Dairy Sci. 73:1823.
Martin, C., L. Bernard, B. Michalet-Doreau.1996. J. Anim. Sci. 74: 1157.
Statistical Analysis System. 1988. 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.

DETERMINACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE ALIMENTOS UTILIZANDO EFLUENTE DE FERMENTADORES COMO INÓCULO: EFECTO DE LA RACIÓN BASAL INCUBADA EN LOS FERMENTADORES

M.L. Tejido, M.J. Ranilla y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24007 León

INTRODUCCIÓN

Algunos autores han señalado la posibilidad de utilizar efluente de fermentadores como inóculo para estimar la digestibilidad *in vitro* (DIV) de alimentos para los animales rumiantes. Así, se han observado correlaciones estadísticamente significativas de la DIV de diferentes alimentos determinada utilizando efluente de fermentadores con su digestibilidad *in vivo* (Tejido et al., 2001) y con su DIV determinada utilizando líquido ruminal de ovejas como inóculo (Owens et al., 1991). En numerosos estudios se ha constatado que la ración ingerida por los animales donantes de líquido ruminal puede afectar al valor de DIV de los alimentos, pero el posible efecto de la ración incubada en los fermentadores no ha sido investigado hasta el momento. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la proporción de concentrado en la ración administrada a fermentadores sobre la DIV de diferentes alimentos determinada utilizando efluente como inóculo.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (Rusitec) provisto de ocho vasijas. Se utilizaron 2 raciones que consistieron en heno de alfalfa y un concentrado (a base de maíz, cebada y soja) en proporción 80:20 (ración C20) y 20:80 (ración C80). El día 1 se inoculó el sistema Rusitec con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 50:50. Cada ración se incubó en cuatro vasijas y en cada una de ellas se introdujo diariamente una bolsa de nylon conteniendo 15,6 g de materia seca (MS). El día 12 de incubación se midió el pH de cada vasija a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 h después de la introducción de la bolsa (0 h). Después de 17 días de incubación, el fluido de las vasijas se utilizó para determinar la DIV de seis forrajes (heno de alfalfa, heno de veza-cereal, heno de mezcla gramíneas-leguminosas, *Erica arborea*, heno de gramíneas y un heno de prado) y seis concentrados (soja, cebada, maíz, semilla de algodón, pulpa de remolacha y harina de pescado). El contenido en fibra neutro detergente (FND) de los forrajes osciló entre 489 (heno de alfalfa) y 744 g/Kg MS (heno de prado). La DIV se determinó según la técnica descrita por Goering y Van Soest (1970), siguiendo la modificación metodológica propuesta por Ankom Tecnology Corporation. Las muestras (500 mg) se incubaron en bolsitas de material sintético poroso, introducidas en recipientes de vidrio de 4 l en los que se añadieron 2 l de una mezcla del contenido de las vasijas del Rusitec y del medio de cultivo (1:4 v/v) descrito por Goering y Van Soest (1970). Los incubadores

Trabajo financiado por la J.C.Y.L. (LE29/98 y LE38/01) y por la C.I.C.Y.T. (AGF98-0188)

utilizados (Daisy II; Ankom Technology Corporation) disponían de 4 recipientes cada uno. En cada uno de los recipientes se utilizó como inóculo el contenido de una vasija. En cada recipiente se introdujo una bolsa de cada uno de los alimentos (de tal forma que se obtuvieron 4 réplicas para cada una de las raciones), dos bolsas vacías (blancos) y dos bolsas con un alimento de DIV conocida. Los alimentos se incubaron a 39°C durante 48 h, tras lo cual, se determinó el contenido en FND del residuo de las bolsas empleando el analizador de fibra Ankom 220. Finalmente, las bolsas fueron se secaron a 60°C durante 48 h para determinar la DIV de los alimentos. El efecto de la ración incubada en los fermentadores sobre la DIV de cada alimento se analizó mediante análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como muestra la tabla 1, el tipo de ración incubada en los fermentadores no afectó ($P>0,05$) a la DIV de ningún concentrado. En cuanto a los forrajes, la DIV del heno de prado fue mayor ($P<0,05$) cuando se determinó con inóculo procedente de las vasijas que recibían la ración que C20 que cuando se usó el líquido de las vasijas en las que se incubaba la ración C80, pero no se observaron diferencias ($P>0,05$) atribuibles al inóculo en la DIV del resto de los forrajes.

Tabla 1. Efecto de la ración (**C20** y **C80**) incubada en fermentadores sobre la digestibilidad *in vitro* (DIV) de diferentes alimentos determinada utilizando efluente de los fermentadores como inóculo

	Forrajes					
	Heno de alfalfa	Heno de veza-cereal	Heno de gram.-legum.	*Erica arborea*	Heno de gramíneas	Heno de prado
DIV**C20**	68,68	63,59	66,82	48,11	73,39	52,23[b]
DIV**C80**	68,60	63,78	66,12	48,35	70,91	47,06[a]
e.e.d.[1]	0,985	1,204	1,145	0,739	1,531	1,386
	Concentrados					
	Soja	Cebada	Maíz	Semilla de algodón	Pulpa de remolacha	Harina de pescado
DIV**C20**	98,95	87,35	95,54	57,04	93,54	93,77
DIV**C80**	98,80	86,81	95,43	57,16	94,01	92,49
e.e.d.[1]	0,253	0,712	0,175	0,847	0,513	1,094

[a, b] dentro de cada alimento, los valores con diferente superíndice difieren ($P<0,05$).

[1] error estándar de la diferencia

Existen numerosos factores que pueden afectar la DIV de los alimentos, y la ración que reciben los animales donantes de líquido ruminal es uno de ellos, ya que afecta a la población microbiana existente en el inóculo. Aunque se han realizado numerosos estudios sobre este tema, los resultados obtenidos son contradictorios (Weiss, 1994) y en muchos casos no se ha observado un efecto claro del tipo de ración administrada a los animales donantes de líquido ruminal. Las raciones con una proporción elevada de concentrados provocan una disminución del pH ruminal que puede afectar negativamente a las bacterias celulolíticas, especialmente cuando el pH alcanza valores inferiores a 6,0

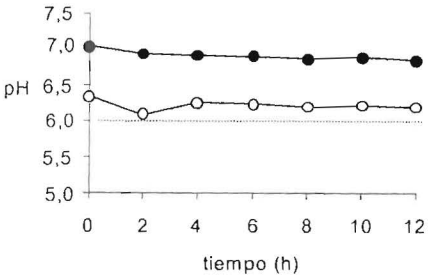


Fig. 1. Evolución del pH de las vasijas que recibían las raciones **C20** (•) y **C80** (O) después de introducir el alimento (0 h)

(Stewart, 1977). La utilización de líquido ruminal de animales o fermentadores en estas condiciones podría afectar negativamente a la DIV de los alimentos fibrosos (Weiss, 1994). En este experimento, el pH del inóculo (Fig. 1) fue menor ($P<0,001$) en las vasijas que recibieron la ración **C80** (6,04) que en las que recibieron la ración **C20** (6,73). Sin embargo, cuando el líquido ruminal se mezcla con el medio de cultivo se produce un aumento del pH hasta valores cercanos a la neutralidad. Por otra parte, una vez finalizada la incubación (48 h), no se observaron diferencias ($P>0,05$) entre el pH del contenido de los recipientes con el inóculo correspondiente a la ración **C80** (6,58) y el del contenido de los que recibieron el inóculo de la ración **C20** (6,61). Estos valores indican que el pH se mantuvo en valores adecuados para el normal funcionamiento de la flora celulolítica ruminal, y podrían explicar la falta de diferencias ($P>0,05$) en la DIV observada para la mayoría de los forrajes.

Por otra parte, la única diferencia encontrada en la DIV de los alimentos analizados corresponde al forraje con un mayor contenido en pared celular (heno de prado). Esta diferencia podría deberse a que en el inóculo procedente de las vasijas que recibieron la ración **C80** existió una menor cantidad y/o actividad de la flora celulolítica ruminal. A pesar de que los valores de pH en estas vasijas estuvieron por encima de 6,2 durante la mayoría del día (Fig. 1), tras la administración de alimento el pH descendió a valores cercanos a 6,0 y esto pudo haber afectado negativamente a las bacterias celulolíticas. Dado que no se observó este efecto en la DIV del resto de los forrajes, el posible efecto de la ración incubada no fue muy acusado.

A la vista de los resultados obtenidos en este trabajo, se puede afirmar que la proporción de concentrado en la ración administrada a fermentadores semicontinuos en las condiciones de este experimento parece no afectar a la DIV de diferentes alimentos determinada utilizando efluente como inóculo, excepto en los alimentos con un alto contenido en pared celular. No obstante, dado el limitado número de alimentos utilizados en este estudio no se puede establecer una conclusión definitiva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv.*, USDA. Washington DC.

Owen, E., Jayasuriya, M.C.N., Hamilton, R. and Lalenta, M. 1991. *J. Agric. Sci.*, Camb. 116, 297-301.

Stewart, C.S., 1977. *Appl. Environm. Microbiol.* 33, 497-502.

Tejido, M.L., Ranilla, M.J. and Carro, M.D. 2001. *Proc. of the 124 BSAS Annual Meeting*. pp. 126.

COMPARACIÓN DE LA FERMENTACIÓN MICROBIANA EN EL RUMEN DE OVEJAS Y EN FERMENTADORES SEMICONTINUOS (RUSITEC)

M.J. Ranilla, M.L. Tejido y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEÓN

INTRODUCCIÓN

Debido a los problemas laborales y éticos que plantea la utilización de animales fistulados en el aparato digestivo en la experimentación en nutrición animal, se han desarrollado varios métodos que permiten simular la fermentación ruminal. Entre los métodos más utilizados se encuentran los fermentadores de tipo continuo y semicontinuo. Sin embargo, a pesar del gran número de trabajos publicados en los que se utilizan fermentadores, existen muy pocos en los que se comparen los parámetros fermentativos obtenidos en estos aparatos con los observados en el rumen de los animales (Mansfield et al., 1995). En este trabajo se compara la fermentación microbiana en el rumen de ovejas y en fermentadores semicontinuos cuando ambos recibieron las mismas raciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (Rusitec) provisto de ocho vasijas y cuatro ovejas fistuladas en el rumen. Ambos recibieron 2 raciones que consistieron en heno de alfalfa y concentrado (maíz, cebada y soja) en proporción 80:20 (ración **C20**) y 20:80 (ración **C80**). Cada oveja recibió diariamente 1,035 kg de materia seca (MS) administrados en dos porciones iguales a las 9:00 y 21:00 horas. El procedimiento experimental y los resultados obtenidos en la prueba *in vivo* han sido descritos por Carro et al. (2000).

En cuanto a la prueba *in vitro*, el día 1 se inoculó el sistema Rusitec con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción 50:50. La ración se incubó diariamente en el Rusitec en bolsas de nylon (15,6 g MS/ día a las 9:00 h) y se mantuvo cada bolsa dentro de la vasija durante 48 horas. Durante los días 9, 10 y 11 se determinaron los siguientes parámetros: pH, degradabilidad de la ración tras 48 horas de incubación y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV). El día 12 se midió el pH del líquido de cada vasija a las 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 horas tras la administración de alimento. Durante los días 13 y 14 se determinó la síntesis microbiana en las fases sólida (residuo de las bolsas de nylon) y líquida (efluente) de la digesta. Para ello se realizó una infusión continua de ^{15}N desde el día 9 hasta el final del experimento. Como muestras de referencia se aislaron bacterias asociadas a la fase sólida y a la fase líquida de la digesta y se calculó el crecimiento microbiano en ambas fases.

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza factorial y los efectos incluidos en el modelo fueron el método de estudio (oveja *vs* Rusitec), el tipo de ración (**C20** *vs* **C80**) y la interacción método de estudio x tipo

Trabajo financiado por la J.C.Y.L. (LE29/98 y LE38/01) y por la C.I.C.Y.T. (AGF98-0188)

de ración. Dada la existencia de interacciones significativas en algunos de los parámetros, el efecto del tipo de ración se analizó independientemente para cada método de estudio mediante una prueba *t* de Student.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1 no existieron diferencias ($P>0,05$) entre el pH del rumen y el de las vasijas cuando éste se midió inmediatamente antes de la administración de alimento. En el rumen de las ovejas el pH descendió de forma acusada tras la ingestión de la ración, mientras que en los fermentadores el pH no descendió de 6,0 con ninguna de las dos raciones. Debido a ello, los valores medios de pH durante las 12 horas posteriores a la administración de alimento fueron inferiores ($P<0,01$) en el rumen de las ovejas que en los fermentadores. Este hecho se debió a la fuerte capacidad amortiguadora de la saliva artificial utilizada en los fermentadores. Tanto las ovejas como los fermentadores que recibieron la ración **C20** presentaron un pH superior ($P<0,05$) al de los que recibieron la ración **C80**, por lo que la interacción método de estudio x tipo de ración no fue significativa ($P>0,05$).

No existieron diferencias significativas ($P>0,05$) entre raciones en la concentración de AGV con ninguno de los métodos de estudio (Tabla 1), aunque las concentraciones en el rumen de las ovejas fueron mayores ($P<0,001$) que las observadas en los fermentadores. Comparada con la ración **C20**, la ración **C80** provocó una disminución ($P<0,05$) de la proporción de ácido acético y un aumento ($P<0,05$) en la proporción de ácido butírico tanto en el rumen de las ovejas como en los fermentadores. El tipo de ración no afectó ($P>0,05$) a la proporción molar de ácido propiónico en el rumen de las ovejas, mientras que en los fermentadores la ración **C80** produjo una menor ($P<0,05$) proporción de ácido propiónico que la ración **C20** (12,3 y 16,7 mol/mol, respectivamente). Como consecuencia de ello, la interacción método de estudio x ración fue estadísticamente significativa ($P<0,01$) para la proporción molar de ácido propiónico y para la relación acético/propiónico. Dado el efecto que el pH ruminal tiene sobre la producción de AGV en el rumen (Russell, 1998), es posible que las diferencias de pH observadas entre el rumen de las ovejas y los fermentadores puedan haber ocasionado estos cambios en las proporciones molares de AGV.

En ambos métodos de estudio la digestibilidad aparente de la materia orgánica en el rumen (DMOR) fue mayor ($P<0,05$) para la ración **C80** (Tabla 1), aunque los fermentadores presentaron valores mayores ($P<0,001$) que las ovejas. Hay que tener en cuenta que en los fermentadores la ración se incuba en bolsas de nylon, por lo que existen pérdidas físicas de partículas que pueden ocasionar una sobreestimación de la DMO.

En cuanto al crecimiento microbiano y su eficiencia, en ambos métodos fueron mayores ($P<0,05$) con la ración **C80** que con la ración **C20** (Tabla 1), si bien los valores obtenidos fueron mayores ($P<0,001$) en las ovejas que en los fermentadores para las dos raciones. La eficiencia del crecimiento microbiano ruminal se ve afectada por numerosos factores. Dado que alguno de estos

factores, como son el ritmo de dilución, el tiempo de permanencia del alimento en el rumen y la frecuencia de alimentación, no fueron los mismos en las ovejas que en los fermentadores es comprensible que se hayan obtenido valores diferentes en cada método de estudio.

Los resultados obtenidos indican que los fermentadores reprodujeron las diferencias entre raciones obtenidas *in vivo* en la mayoría de los parámetros ruminales. Sin embargo, posiblemente la simulación de la fermentación ruminal de la ración **C80** hubiera sido más adecuada si se hubieran logrado valores de pH similares a los observados en el rumen de las ovejas.

Tabla 1. Efecto del método de estudio (oveja *vs* Rusitec; MET) y de la ración (**C20** *vs* **C80**; RAC) sobre los principales parámetros de fermentación ruminal

	Oveja		Rusitec			Significación estadística	
	C20 (n = 4)	**C80** (n = 4)	**C20** (n = 4)	**C80** (n = 4)	e.e.d.[1]	MET	METxRAC
pH (0 h)	6,98 ^{b}	6,35 ^{a}	6,87 ^{b}	6,34 ^{a}	0,0878	NS	NS
pH (0-12 h)	6,50 ^{b}	6,06 ^{a}	6,91 ^{b}	6,26 ^{a}	0,096	**	NS
Total AGV (mmol/l)[2]	132	137	83,0	87,3	5,78	***	NS
Acético (mol/mol)	65,5 ^{b}	57,7 ^{a}	57,0 ^{b}	53,7 ^{a}	0,82	***	NS
Propiónico (mol/mol)	17,2	20,6	16,7 ^{b}	12,3 ^{a}	1,28	***	**
Butírico (mol/mol)	13,5 ^{b}	17,1 ^{a}	16,2 ^{a}	24,9 ^{b}	0,56	***	NS
Acético/Propiónico	3,90 ^{b}	2,96 ^{a}	3,41 ^{a}	4,30 ^{b}	0,252	*	***
DMOR (%)[3]	48,3 ^{a}	55,8 ^{b}	61,5 ^{a}	69,6 ^{b}	0,97	***	NS
N microbiano (mg/d)	9.900 ^{a}	14.515 ^{b}	114 ^{a}	126 ^{b}	525,6	***	NS
ESM[4]	22,4 ^{a}	27,1 ^{b}	11,0 ^{a}	12,6 ^{b}	1,36	***	NS

$^{a, b}$ dentro de cada método, los valores con diferente superíndice difieren (P<0,05). * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; NS: P>0,05

[1] error estándar de la diferencia

[2] valores medios en 24 horas (muestreo seriado cada 2 horas en la prueba *in vivo*)

[3] DMOR: digestibilidad aparente de la materia orgánica en el rumen. En la prueba *in vivo* la DMOR se calculó como el 65 % de la materia orgánica digerida en el total del tracto digestivo

[4] ESM: eficiencia de la síntesis microbiana (g N microbiano/ kg materia orgánica aparentemente fermentada en el rumen)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D. , Valdés, C., Ranilla, M.J. and González, J.S. 2000. *Anim. Sci.*, 70: 127-134.

Czerkawski, J.W. and Breckenridge, G., 1977. *Br. J. Nutr.*, 38: 371-384.

Mansfield, H.R., Endres, M.I. and Stern, M.D. 1995. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 55: 47-66.

Russell, J.B. 1998. *J. Anim. Sci.*, 81: 3222-3230.

EFECTO DE LA FUENTE NITROGENADA SOBRE LA SÍNTESIS MICROBIANA Y LA FERMENTACIÓN *IN VITRO* DE DISTINTOS TIPOS DE PARED CELULAR

M.J. Ranilla, S. López y M.D. Carro

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEÓN

INTRODUCCIÓN

Algunos estudios recientes sugieren que, en contra de lo que se ha asumido hasta el momento, las bacterias celulolíticas del rumen pueden incorporar directamente aminoácidos y péptidos durante la síntesis de proteínas (Cruz Soto et al., 1994; Carro y Miller, 1999). Sin embargo, la estimulación de la síntesis microbiana por los péptidos y aminoácidos parece depender de la naturaleza del sustrato disponible por las bacterias para obtener energía. Si el crecimiento microbiano se encuentra limitado por la fuente energética, la adición de péptidos y aminoácidos podría no representar ninguna ventaja.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la adición de péptidos a cultivos *in vitro* de microorganismos ruminales sobre la síntesis de proteína microbiana y la fermentación de tres sustratos fibrosos de diferentes características.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se seleccionaron tres sustratos con diferente composición de su pared celular (fibra neutro detergente, FND): semilla de algodón, paja de alubia y pulpa de cítricos. Las paredes de los tres sustratos se obtuvieron mediante lavado del material con detergente neutro (Goering y Van Soest, 1970), y su composición química se recoge en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química (g/kg FND) de las paredes celulares de los tres sustratos incubados.

	Semilla de algodón	Paja de alubia	Pulpa de cítricos
Hemicelulosa	198	180	188
Celulosa	628	637	662
Lignina	174	183	150

El estudio se llevó a cabo en cultivos en serie de microorganismos ruminales *in vitro*. Se incubaron 500 mg de cada FND en botellas de 125 ml a las que se añadieron 35 ml de una mezcla de líquido ruminal y del medio de cultivo (1:2 v/v) descrito por Goering y Van Soest (1970), mantenida a 39ºC y en anaerobiosis. Como inóculo se utilizó líquido ruminal procedente de cuatro ovejas merinas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de buena calidad.

Se utilizaron dos fuentes nitrogenadas: amoníaco (40 mg de cloruro amónico por botella; AMO) y una mezcla de cloruro amónico y péptidos (40 mg de cloruro amónico y 300 mg de tripticasa por botella, PEP). Como marcadores microbianos se utilizaron ^{15}N y ^{32}P.

Para cada tipo de fibra se incubaron 18 botellas (9 por fuente nitrogenada). La producción de gas se registró en 3 botellas por sustrato y tratamiento nitrogenado a las 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 48, 72 y 96 h. La fermentación se detuvo al cabo de 24 h en el resto de las botellas mediante su introducción en un baño de hielo. Los contenidos de las botellas se transfirieron a tubos de centrífuga y se centrifugaron a

Trabajo financiado por la C.I.C.Y.T. (AGF 98-0188) y por la J.C.Y.L (LE29/98 y LE38/01)

20.000 *g* durante 15 minutos. El sobrenadante se utilizó para determinar la concentración de ácidos grasos volátiles, el enriquecimiento en ^{15}N y el recuento de ^{32}P radioactivo. El residuo de incubación se liofilizó para determinar su contenido en FND, N no amoniacal (NAN), enriquecimiento en ^{15}N y ^{32}P radioactivo.

Los datos de producción de gas se ajustaron al siguiente modelo exponencial: $gas = A\ (1\text{-}e^{-c(t\text{-}lag)})$, en el que *A* es la producción asintótica de gas, *c* es el ritmo fraccional de producción de gas y *lag* es el tiempo de retraso. La proporción de N microbiano en la fracción NAN se estimó dividiendo el enriquecimiento en ^{15}N del residuo de incubación entre el del sobrenadante cuando la única fuente de N fue el amoníaco (AMO). En el caso de los cultivos PEP, la síntesis de proteína microbiana se calculó a partir de la incorporación total de ^{32}P y de la relación ^{32}P:N en los cultivos AMO. Para cada sustrato, el efecto de la fuente nitrogenada se estudió mediante análisis de varianza.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tal y como puede apreciarse en la Tabla 2, la semilla de algodón fue el sustrato con el ritmo fraccional de producción de gas (*c*) más lento, y la pulpa de cítricos el más rápido, con la paja de alubia en una posición intermedia, indicando diferencias entre los tres sustratos en cuanto a la disponibilidad de energía. El parámetro *c* fue mayor ($P<0,05$) cuando la paja y la pulpa se incubaron en presencia de péptidos, sin que se observaran diferencias ($P>0,05$) entre fuentes nitrogenadas para la semilla de algodón. Estos resultados están en línea con los obtenidos por otros autores (Cruz Soto et al., 1994), y podrían indicar un efecto positivo sobre la fermentación *in vitro* de la adición de péptidos en presencia de fuentes de energía rápidamente disponibles. A pesar de estas diferencias en los parámetros de producción de gas, no se observaron diferencias ($P>0,05$) entre AMO y PEP en la cantidad de FND degradada al cabo de 24 h en ninguno de los tres sustratos. La producción de AGV sólo fue significativamente mayor ($P<0,05$) con el tratamiento PEP en el caso de la paja de alubia.

La síntesis de proteína microbiana se vio estimulada ($P<0,05$) en presencia de péptidos cuando se incubaron la FND de la paja de alubia y la pulpa de cítricos, sin que se observara efecto con la semilla de algodón. Este hecho sugiere que, debido al lento ritmo de producción de gas de este sustrato y a su largo tiempo de retraso (*lag*), los péptidos no pudieron ser directamente captados por las bacterias cuando se encontraban disponibles, mientras que en el caso de la paja y la pulpa, las bacterias pudieron utilizar los péptidos presentes en el medio, lo que se tradujo en una mayor síntesis de proteína microbiana. Los datos correspondientes a la captación de amoníaco confirman esta hipótesis. El porcentaje de N microbiano formado a partir de amoníaco fue significativamente menor ($P<0,05$) con el tratamiento PEP para la paja de alubia y la pulpa de cítricos, indicando una captación directa de péptidos en lugar de amoníaco cuando estos se encontraban en el medio, sin que se observaran diferencias en la captación de amoníaco ($P>0,05$) entre AMO y PEP para la semilla de algodón.

La utilización de péptidos para la síntesis de proteína microbiana aumentó ($P<0,05$) la eficiencia de dicha síntesis (ESM) en términos de cantidad de proteína microbiana sintetizada por g de MS fermentada en el caso de la paja de alubia y de la pulpa de cítricos, sin que se observaran diferencias para la semilla de algodón. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Carro y Miller (1999), quienes

observaron un aumento en la eficiencia de la síntesis microbiana *in vitro* sobre un sustrato fibroso (FND) cuando se añadieron péptidos al medio de cultivo.

Tabla 2. Parámetros de la curva de producción de gas (*c* y *lag*), producción de gas estimada a las 24 h, FND degradada (dFND), producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y N microbiano en 24 h, eficiencia de la síntesis microbiana (ESM, mg N microbiano/ g MS fermentada) y captación de NH_3 (%) para muestras de FND de los tres sustratos incubados *in vitro*.

		AMO	PEP	e.e.d.
Semilla de algodón	*c* (h^{-1})	0,023	0,021	0,0008
	lag (h)	6,16	5,52	0,634
	gas 24 h (ml)	20,1[a]	17,9[b]	0,16
	dFND (mg)	26,0	27,7	1,78
	AGV (µmol)	463	478	111,0
	N microbiano (mg)	2,75	3,50	0,293
	ESM	21,0	25,0	1,62
	captación NH_3 (%)	76,9	61,0	10,71
Paja de alubia	*c* (h^{-1})	0,044[a]	0,054[b]	0,0035
	lag (h)	4,43	4,35	0,208
	gas 24 h (ml)	37,1	38,3	2,74
	dFND (mg)	38,1	37,4	8,73
	AGV (µmol)	808[a]	887[b]	19,6
	N microbiano (mg)	5,47[a]	7,01[b]	0,291
	ESM	28,3[a]	37,7[b]	2,00
	captación NH_3 (%)	80,4[a]	60,6[b]	5,27
Pulpa de cítricos	*c* (h^{-1})	0,072[a]	0,080[b]	0,0015
	lag (h)	3,93	3,77	0,171
	gas 24 h (ml)	78,9	79,4	1,27
	dFND (mg)	72,7	73,0	0,85
	AGV (µmol)	1722	1796	50,0
	N microbiano (mg)	8,10[a]	12,0[b]	0,380
	ESM	21,9[a]	32,3[b]	1,16
	captación NH_3 (%)	69,1[a]	38,5[b]	3,84

e.e.d.: error estándar de la diferencia.

Los resultados obtenidos confirman que, cuando la pared celular (FND) representa la única fuente de energía disponible, los péptidos estimulan la síntesis de proteína microbiana *in vitro* dependiendo de las características de dicha pared celular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D. y Miller, E.L. 1999. *Br. J. Nutr.*, 82: 149-157.

Cruz Soto, R., Muhammed, S.A., Newbold, C.J., Stewart, C.S. y Wallace, R.J. 1994. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 49: 151-161.

Goering, M.K. y Van Soest, P.J. 1970. *Agr. Handb. n 379, Agric. Res. Serv.*, USDA, Washington, USA.

COMPARACIÓN DE DIVERSOS MÉTODOS DE DESLIGAMIENTO DE BACTERIAS RUMINALES ASOCIADAS A LA FASE SÓLIDA DE LA DIGESTA EN UN SISTEMA *IN VITRO* (RUSITEC)

M.J. Ranilla, M.D. Carro y M.L. Tejido

Departamento de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 LEÓN

INTRODUCCIÓN

A pesar de los numerosos estudios llevados a cabo sobre la síntesis de proteína microbiana en el rumen, existen muy pocos datos definitivos sobre los factores que intervienen en la misma o en su eficiencia. Ello es debido, fundamentalmente, a la variedad de técnicas empleadas para cuantificar la producción de nitrógeno microbiano y a la dificultad para obtener una muestra representativa de la población bacteriana.

Diversos métodos para estimar la síntesis de proteína microbiana se basan en el uso de marcadores, y en especial, en la relación marcador:N de la población microbiana del rumen. Esta población microbiana se compone de dos fracciones: las bacterias que se encuentran en suspensión en la fase liquida (BAL), y las que se asocian a la fase sólida de la digesta (BAS). El aislamiento de las BAL es relativamente sencillo, por lo que se han venido utilizando como fracción representativa de todos los microorganismos presentes en el rumen. Sin embargo, la mayoría de los microorganismos ruminales se encuentra asociada a las particulas no digeridas de alimento (BAS), y se sabe que su composición química es diferente a la de las BAL (Merry y McAllan, 1983). Puesto que la relación marcador:N difiere entre BAL y BAS, sería conveniente tener en cuenta ambas fracciones a la hora de estimar la síntesis de proteína microbiana.

El aislamiento de las BAS es más complicado que el de las bacterias de la fase líquida, ya que se requiere inhibir la adhesión de los microorganismos a las partículas de alimento y conseguir su desligamiento, así como recuperar la mayor proporción posible de las que han sido desligadas. La literatura recoge diversos tratamientos de desligamiento físico-químicos y mecánicos de las BAS, con resultados variables (Whitehouse et al., 1994; Martín-Orúe et al., 1998).

En este trabajo se estudió el efecto de diversos métodos de desligamiento de las BAS en un sistema *in vitro* de fermentadores semicontinuos (RUSITEC), que permite obtener las fases sólida y líquida de la digesta en compartimentos separados.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo utilizando un rumen artificial de tipo semicontinuo (RUSITEC; Czerkawski y Breckenridge, 1977) provisto de cuatro vasijas que recibieron una ración consistente en 80% de heno de alfalfa y 20% de un concentrado a base de maíz, soja y cebada. La incubación se prolongó durante 16 días: 12 días de adaptación a la dieta y 4 días de medida. El día 1 se inoculó el sistema con contenido ruminal (líquido y sólido) procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporciones 50:50. El alimento (15,6 g de materia seca) se incubó diariamente en bolsas de nylon,

Trabajo financiado por la J.C.Y.L. (LE29/98 y LE38/01) y por la C.I.C.Y.T. (AGF 98-0188)

manteniéndose cada bolsa dentro de la vasija durante 48 horas. Como marcador microbiano se utilizó ^{15}N.

Tras su retirada de las vasijas, el contenido de las bolsas se pesó y se tomó una muestra de digesta sólida. El resto del material se sometió al tratamiento de desligamiento correspondiente. Los cuatro métodos de desligamiento estudiados fueron los siguientes:

- tratamiento CONTROL: el residuo sólido se diluyó con metilcelulosa al 0,1% en solución salina, se agitó a mano y se incubó a 37°C durante 30 minutos en agitación continua, mantenido posteriormente a 4°C y pH=2 durante 24 h.
- TWEEN 80 (TW): tratamiento control + suspensión en una solución salina con Tween80 al 0,1 % a 4°C y pH=2 durante 24 h.
- METANOL (ME): tratamiento control + suspensión en una solución salina con Tween 80 al 0,1% y metanol al 1% a 4°C durante 24 h.
- BUTANOL TERCIARIO (BU): tratamiento control + suspensión en una solución salina con Tween 80 al 0,1% y butanol terciario al 1% a 4°C durante 24 h.

En cada uno de los días de medida (días 13,14, 15 y 16) se asignó cada tratamiento de desligamiento a una vasija, de forma que se obtuvieron un total de cuatro réplicas por tratamiento. En todos los tratamientos, pasadas las 24 h el residuo se homogeneizó y filtró a través de dos bolsas de nylon de 40 µm. Posteriormente el residuo se resuspendió en la solución correspondiente, se mezcló y filtró de nuevo, repitiendo el proceso 5 veces. El filtrado final se utilizó para aislar un pellet bacteriano de las bacterias asociadas a la fase sólida por centrifugación diferencial sobre el que se determinó su contenido en MS, N y ^{15}N. Las muestras de digesta sólida antes y después del tratamiento de desligamiento se liofilizaron para para determinar su contenido en MS, nitrógeno no amoniacal (NAN) y ^{15}N.

El porcentaje de BAS desligadas se calculó como la pérdida de átomos de ^{15}N en exceso en la digesta sólida tras el tratamiento de desligamiento correspondiente. La proporción de BAS recuperadas de las desligadas se calculó a partir de los enriquecimientos en ^{15}N de la digesta antes y después del tratamiento de desligamiento y los de los pellets bacterianos. El porcentaje de recuperación total se calculó como ((% BAS recuperadas de las desligadas) x (% desligamiento))/ 100.

El efecto del método de desligamiento sobre los distintos parámetros estudiados se estudió mediante análisis de varianza y se realizaron los siguientes contrastes: C1: control *vs* TW, ME y BU; C2: TW *vs* ME y BU; C·: ME *vs* BU.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la Tabla 1, con el tratamiento control con metilcelulosa se obtuvo un porcentaje de desligamiento del 80,5%, similar a los valores descritos por Whitehouse et al., (1994) tras la incubación con metilcelulosa a 37 °C . En nuestro estudio, no se observaron efectos aditivos del tratamiento posterior con TW, ME o BU sobre el tratamiento control con metilcelulosa, ni existieron diferencias (P>0,05) entre los distintos tratamientos de desligamiento en el porcentaje de BAS desligadas, obteniendo un valor medio de 80,1 %. Estos valores son mayores a los obtenidos con otros tratamientos basados en la homogeneización el enfriamiento de las muestras (Merry y McAllan, 1983; Martín-Orúe et al., 1998).

Tabla 1. Porcentajes de desligamiento, de recuperación de bacterias asociadas a la fase sólida de la digesta (BAS) desligadas, de recuperación de BAS totales y enriquecimiento en ^{15}N en BAS obtenidos con distintos métodos de desligamiento

tratamiento de desligamiento	% desligamiento	% recuperación BAS desligadas	% recuperación BAS totales	enriquecimiento (^{15}N/N total) BAS
Control	80,5	68,9	55,6	0,4341
TW	78,9	68,9	54,1	0,4365
BU	79,4	68,8	54,6	0,4429
ME	81,7	69,0	56,1	0,4468
e.e.d.	2,45	7,38	5,50	0,00891
C1	NS	NS	NS	NS
C2	NS	NS	NS	NS
C3	NS	NS	NS	NS

e.e.d.: error estándar de la diferencia
C1: Control vs TW, BU y ME; C2: TW vs BU y ME; C3: BU vs ME; NS: no significativo
(Ver texto para los diferentes tratamientos de desligamiento)

El porcentaje de recuperación de las BAS desligadas tampoco fue diferente (P>0,05) entre tratamientos de desligamiento, representando como media un 68,9% de las bacterias desligadas. De forma similar, no se observaron diferencias (P>0,05) en los porcentajes de recuperación de BAS totales entre los cuatro tratamientos de desligamiento, con un valor medio del 55,1%. Estos valores son superiores a los obtenidos por otros autores mediante diversos métodos de desligamiento, debido a que, como ya se ha indicado, nuestros valores de desligamiento fueron mayores a los encontrados en la literatura con otros métodos. El enriquecimiento en ^{15}N fue similar (P>0,05) en las BAS aisladas mediante los cuatro tratamientos, lo que podría indicar una composición homogénea de las poblaciones de bacterias aisladas por cualquiera de los métodos.

Los resultados obtenidos indican que la incubación con metilcelulosa a 37°C durante 30 minutos produce un desligamiento del 80% de las BAS, mayor que el obtenido por otros métodos físico-químicos. El uso de reactivos potencialmente peligrosos como el Tween 80, el butanol terciario y el metanol no mejora este porcentaje de desligamiento, por lo que puede evitarse.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Czerkawski, J.W. y Breckenridge, G., 1977. *British Journal of Nutrition*, 38: 371-384.
Martín-Orúe, S.M., Balcells, J., Zakraoui, F. y Castrillo, C. 1998. *Animal Feed Science and Technology*, 71: 269-282.
Merry, R.J. y McAllan, A.B. 1983. *British Journal of Nutrition*, 50: 701-709.
Whitehouse, N.L., Olson, V.M., Schwab, C.G., Chesbro, W.R., Cunningham, K.D. y Lykos, T. 1994. *Journal of Animal Science*, 72: 1335-1343.

UTILIZACIÓN DE ^{15}N Y BASES PÚRICAS COMO MARCADORES PARA ESTIMAR LA SÍNTESIS MICROBIANA *IN VITRO*

M.L. Tejido[1], M.D. Carro[1], M.J. Ranilla[1], S. López[1], M.J. Arín[2] y M.T. Díez[2]

[1] Dpto. de Producción Animal I, Universidad de León, 24071 León
[2] Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de León, 24071 León

INTRODUCCIÓN

Las dificultades que conlleva la determinación del crecimiento microbiano en el rumen de los animales ha hecho que muchos de los estudios sobre este tema se hayan realizado en condiciones *in vitro*. A pesar de ello, todavía no existe un método estandarizado que permita determinar la síntesis microbiana *in vitro*, y esta situación se complica por la falta de un marcador microbiano que cumpla todos requisitos para ser considerado "ideal". Dentro de los marcadores más utilizados se encuentran las bases púricas (BP) y el ^{15}N, y ambos son considerados por muchos autores como los marcadores de elección. Sin embargo, los resultados de los estudios que comparan ambos marcadores son contradictorios, ya que en algunos las BP sobrestiman la síntesis microbiana comparado con el ^{15}N, y en otros estudios la subestiman (Carro, 2001). El objetivo de este estudio fue comparar los resultados obtenidos con BP y ^{15}N cuando ambos se utilizan como marcadores microbianos para estimar la síntesis microbiana en condiciones *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización del siguiente experimento se utilizó como sustratos almidón, celulosa y una mezcla de almidón-celulosa (50:50). Los sustratos (500mg) se incubaron en botellas de 125 ml 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 inoculo se utilizó líquido ruminal procedente de 4 ovejas fistuladas en el rumen y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado en proporción (70:30). El líquido ruminal se recogió 2 horas después de la administración de alimento y fue filtrado a través de 2 capas de nylon de 40 μm de poro. Al medio de cultivo se le añadió una disolución de ácido valérico, isovalérico e isobutírico y Na_2SO_3 para no limitar el crecimiento microbiano. Así mismo se añadió una solución de $^{15}NH_4Cl$ como marcador microbiano. En cada bote de incubación se añadió 15 mg de N mediante 2 ml de una solución de amoníaco (AMO) o de una mezcla de amoníaco y proteína de soja (50:50; PROT). Cada sustrato se incubó con el líquido ruminal de cada una de las ovejas. Para cada sustrato, tratamiento nitrogenado y oveja se incubaron 9 botes a 39°C. Para el almidón el tiempo de incubación fue de 24 h, de 30 h para la mezcla de almidón-celulosa y de 36 h para la celulosa. Una vez finalizada la incubación el contenido de los 9 botes se homogeneizó mediante una batidora de varillas, y aproximadamente 300 g de la muestra fueron utilizados para obtener el pellet bacteriano mediante centrifugación diferencial. El resto de muestra (150 g) se liofilizó para obtener la digesta total. Sobre el pellet bacteriano y sobre la digesta total se analizó el contenido en N no amoniacal (NNA), ^{15}N y BP. Los

Trabajo financiado por la J.C.Y.L. (LE29/98 y LE38/01) y por la C.I.C.Y.T. (AGF98-0188)

análisis de ^{15}N se realizaron mediante espectofotometría de masas y los análisis de BP mediante cromatografía líquida de alta eficacia.

El crecimiento microbiano se determinó mediante el uso de los marcadores: ^{15}N y bases púricas. Para ambos marcadores la estimación de la proporción de N de la digesta que es de origen microbiano se calculó dividiendo la relación marcador:N en la digesta por la relación marcador:N en el pellet bacteriano. La síntesis microbiana se calculó multiplicando la proporción de N microbiano por el contenido en NNA de cada bote. Los análisis de N^{15} en el pellet bacteriano y en la digesta se realizaron mediante espectofotometría de masas y los análisis de bases púricas mediante HPLC.

Para cada sustrato, el efecto de la fuente nitrogenada sobre el crecimiento microbiano y el efecto del marcador sobre la determinación del mismo se analizaron mediante una prueba de *t* de Student para el contraste de la igualdad de medias obtenidas a partir de observaciones pareadas. Adicionalmente, las relaciones entre los resultados obtenidos con los dos marcadores se estudiaron mediante análisis de correlación simple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La cantidad de N microbiano estimada con ambos marcadores (Tabla 1) fue mayor ($P<0,05$) cuando se empleó como fuente de nitrógeno la mezcla de amoníaco y proteína que al emplear amoniaco en el caso del almidón y del almidón-celulosa, pero no para la celulosa.

Tabla 1. Efecto de la fuente nitrogenada y del marcador microbiano (bases púricas (BP) y ^{15}N) sobre la determinación de la síntesis microbiana (mg N microbiano) en condiciones *in vitro*

Sustrato	Tratamiento nitrogenado	Marcador microbiano BP	Marcador microbiano ^{15}N	BP *vs* ^{15}N (valor de P)
Almidón	Amoniaco	21,41[a]	17,94[a]	0,150
	Proteína	23,68[b]	19,10[b]	0,110
	e.e.d.[1]	0,311	0,117	
Almidón + Celulosa	Amoniaco	21,39[a]	14,53[a]	0,001
	Proteína	22,70[b]	15,82[b]	0,002
	e.e.d.[1]	0,367	0,394	
Celulosa	Amoniaco	16,84	14,00	0,248
	Proteína	17,21	14,14	0,131
	e.e.d.[1]	0,962	0,127	

[a, b] dentro de cada alimento, los valores con diferente superíndice difieren ($P<0,05$).
[1] error estándar de la diferencia

El empleo de BP para estimar el N microbiano condujo a valores mayores ($P<0,01$) que los obtenidos utilizando ^{15}N al utilizar como sustrato la mezcla de almidón-celulosa. Para el resto de los sustratos también se observó un aumento numérico, aunque no llegó a ser estadísticamente significativo ($P>0,05$). Estos resultados están en línea con los obtenidos por Cecava et al. (1991) y Carro y

Cecava et al. (1991) y Carro y Miller (1999), quienes observaron una sobrestimación en el crecimiento microbiano estimado a partir de BP en comparación a los valores obtenidos con ^{15}N. Este hecho puede ser debido a que en el proceso de aislamiento del pellet bacteriano se produce la lisis de algunas células bacterianas. Dado que las BP se localizan exclusivamente en el interior de las bacterias, el proceso de lisis bacteriana puede determinar menores concentraciones de BP en el pellet aislado.

Cuando se analizaron de manera conjunta los valores obtenidos para los tres sustratos, se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa ($P<0,001$) entre las estimaciones a partir de PB y de ^{15}N (Figura 1).

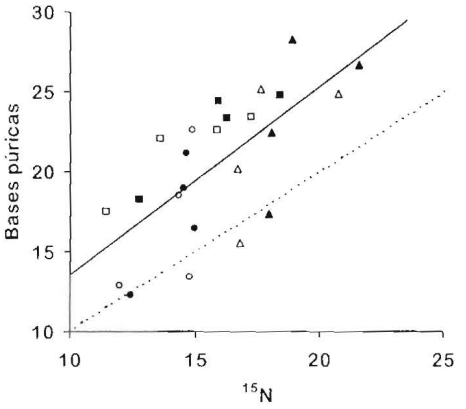


Fig. 1. Relación entre los valores de N microbiano obtenidos con ^{15}N y bases púricas (BP) como marcadores.
BP = 1,72 (± 4,208) + 1,182 (± 0,2610) ^{15}N
r = 0,695; RSD = 3,26; P<0,001

Almidón (Δ), almidón + celulosa (□), celulosa (O). Los símbolos llenos corresponden al tratamiento con proteína y los vacíos al tratamiento con amoníaco.

Los resultados de este estudio muestran que los dos marcadores detectaron las mismas diferencias en la cantidad de N microbiano debidas a l tipo de fuente nitrogenada. A pesar de que los valores obtenidos con las BP fueron mayores que los estimados con ^{15}N, la relación obtenida entre ambos indicaría que tanto las BP como el ^{15}N pueden utilizarse para estudiar el efecto de diferentes factores sobre la producción de N microbiano *in vitro*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Carro, M.D. 2001. *Investigación Agraria: Producción y Sanidad Animales* (En prensa).

Carro, M.D. and Miller, E.L., 1999. *Proc. of the BSAS Winter Meeting 1999*. pp. 214.

Cecava, M.J., Merchen, N.R., Berger, L.L., Mackie, R.I. and Fahey Jr., G.C., 1991. *J. Anim. Sci.*, 69: 2230-2243.

Goering, M.K. and Van Soest, P.J. 1970. *Agric. Handb. n 379. Agric. Res. Serv.*, USDA. Washington DC.

EFECTO DE LAS CONDICIONES DE CONSERVACIÓN SOBRE LA ESTABILIDAD DE MUESTRAS DE CEBADA MOLIDA.

A. Gómez Cabrera, M.D. Isac, M.J. Arana, V. Fernández, M.D. Pérez
Dpto. Producción Animal, ETSIAM, Apdo. 3048, 14080 Córdoba

INTRODUCCIÓN

Tanto para corregir los resultados obtenidos al analizar los alimentos en un mismo o en distintos laboratorios, como para calibrar los aparatos en determinadas técnicas analíticas (NIRS), es necesaria la utilización de muestras que han sido valoradas previamente, sirviendo como muestras de referencia para estas funciones.

Sin embargo, para que sea posible esta utilización es necesario que dichas muestras se conserven en condiciones que permitan mantener sus características inalteradas o, al menos, aquellas para las que van a servir como muestras de referencia. No obstante, existe poca información sobre las condiciones de conservación de las muestras que aseguren la estabilidad de las mismas, por lo que, en el marco del programa STRIDE se creó en la Universidad de Córdoba un Banco de Muestras Valoradas, entre cuyos objetivos se encontraban los de determinar el efecto de las condiciones de manipulación y de conservación de las muestras sobre la estabilidad de sus parámetros analíticos (Gómez Cabrera y col, 1993). En el presente trabajo se estudia el efecto del tipo de envase y de la temperatura sobre la estabilidad de conservación de una muestra de cebada molida.

MATERIAL Y MÉTODOS

La cebada fue suministrada por una fabrica de piensos, siendo desconocidas sus características. Previamente a su envasado, fue molida utilizando un molino de martillos y una malla de 1,5 mm de diámetro. Se utilizaron 5 submuestras para cada uno de los tipos de envase (5) y temperaturas de conservación (3). La realización de las sucesivas submuestras se llevó a cabo de forma manual, previa homogeneización de la muestra completa.

Los cinco tipos de envase fueron:

1. Bolsa de polietileno transparente con cierre de cremallera, de 15 x 20 cm.
2. Bote de plástico opaco, de 250 cc, con obturador y tapa de plástico negro cerrada a rosca.
3. Bolsa transparente (Vascolan) de 140 micras formada de 7 capas a base de polietileno, poliamida y etilenvinilo, de 16 x 32 cm, cerrada al vacío.
4. Bote de vidrio, de 500 cc, cerrado con tapa metálica con almohadilla de plástico interna, ajustada con semirrosca a presión.
5. Envoltura de plástico negro dentro de la bolsa de plástico (tipo 3), cerrada al vacío. Cinco de estas bolsas se guardaban en un bote de vidrio de 2000 cc, con cierre similar al tipo 4.

Las tres temperaturas de conservación fueron:

1) Temperatura ambiente, dentro de una nave de amplias dimensiones, con control de roedores por ultrasonido y cebos envenenados.
2) En cámara de refrigeración, a 4°C

3) En cámara de congelación, a –20°C. (La cámara tuvo diversos fallos de funcionamiento, por lo que las condiciones de conservación fueron las de muestras que se mantienen alternativamente en períodos prolongados de congelación y otros a temperatura ambiente).

Se obtuvieron 5 submuestras que fueron analizadas en el momento inicial y otras 225, correspondientes a la conservación, por quintuplicado, en cada uno de los 5 tipos de envase y en cada una de las 3 temperaturas de conservación, considerando la posibilidad de realizar controles a tres tiempos distintos de conservación, aunque finalmente solo se realizó uno para las conservadas en las cámaras y dos para las mantenidas a temperatura ambiente. Las fechas de dichos controles fueron: Inicial: 9/5/95 (5 muestras). 1er control: 28/9/95. 5 envases a temperatura ambiente. (25 muestras). 2° control: 8/11/99 5 envases a las 3 temperaturas (10 muestras/envase al ambiente y 15 a 4°C y a congelación).

Las muestras fueron sometidas a dos tipos de control, uno previo, que comprobaba la conservación intacta del envase y de la muestra (por la acción de roedores), así como la no presencia de insectos y/o de síntomas de enmohecimiento, y otro analítico, realizado por NIRS, que determinaba la evolución de distintos parámetros químicos en las muestras que no habían sido eliminadas en el control previo.

El análisis NIRS se realizó en un equipo FossNIRSystems 6500 con barrido desde 400 a 2500 nm, utilizando una cápsula de 3,5 cm de diámetro. Las muestras estuvieron 4 días en el laboratorio dentro de sus respectivos envases y se molieron en un molino ciclónico antes de ser analizadas. De cada una de las muestras se analizaron 2 submuestras, repitiendo la medida cuando las diferencias entre los espectros superaban el valor de RMS de 3200. La estima de los valores químicos (humedad, cenizas, proteína bruta y fibra bruta) se realizó utilizando unas ecuaciones obtenidas en nuestro departamento sobre un colectivo de 68 muestras de cebada, con los siguientes estadísticos de calibración:

	Media	Rango	SD	SECV	R^2
Humedad	11,53	9,6 – 13,0	0,94	0,22	0,94
PB	11,28	10,1 – 11,4	0,45	0,21	0,77
FB	4,35	3,4 – 5,7	0,49	0,37	0,42
Cenizas	2,29	1,9 – 2,8	0,29	0,12	0,74

Los valores obtenidos se analizaron con el programa GLM del paquete estadístico SAS (1986).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras conservadas a temperatura ambiente (cuadro 1), el principal problema de conservación ha sido la rotura del envase por parte de roedores, a los que no pareció afectarles la presencia del emisor de ultrasonidos, ni los cebos envenenados. En cambio, las conservadas en la cámara de –20°C los problemas venían derivados del enmohecimiento por falta de estanqueidad del envase a la humedad. En ningún caso se observó la contaminación con gorgojos, que pueden destruir las muestras conservadas a temperatura ambiente, incluso con sistemas de conservación bastante estancos (Minson, comunicación personal).

Cuadro nº 1. Pérdida de muestras por roedores y/o enmohecimiento

Producto	Envase	Temperatura		
		Ambiente *	4ºC	-20ºC
H. cebada	Bolsa cremallera	9 (roedores)	--	15 (moho)
	Bote plástico	1 (roedores)	--	--
	Bolsa vacío	9 (roedores)	--	--
	Bote vidrio	--	--	--
	Bolsa vacío en bote vidrio	--	--	--

(*) Sobre 10 muestras conservadas mas de 4 meses.

En el cuadro nº 2 se expresan los valores medios de humedad, PB, FB y cenizas de la cebada molida, obtenidos mediante el NIRS, para cada uno de los factores principales considerados en el estudio (tiempo, temperatura y envase), sin tener en cuenta las interacciones entre los mismos.

Cuadro nº2
Efecto de la conservación sobre la composición química de la cebada molida

FACTOR		HUMEDAD (%)	PB (%/MS)	FB (%/MS)	Cenizas (%/MS)
TIEMPO	Inicio	6,07	12,18	7,71	3,19
	3 meses	$7,94^{b}$	$12,52^{b}$	$6,32^{b}$	$2,92^{b}$
	4 años	$10,10^{a}$	$12,76^{a}$	$4,81^{a}$	$2,72^{a}$
TEMPERATURA	Ambiente	$8,22^{c}$	$12,61^{b}$	$5,93^{b}$	$2,87^{b}$
	4ºC	$9,15^{b}$	$12,61^{ab}$	$5,47^{a}$	$2,83^{b}$
	-20ºC	$9,67^{a}$	$12,71^{a}$	$5,31^{a}$	$2,76^{a}$
ENVASE	Vidrio	$7,93^{c}$	$12,63^{b}$	$6,01^{c}$	$2,82^{b}$
	Vacío+vidrio	$8,01^{c}$	$12,56^{b}$	$6,05^{c}$	$2,93^{c}$
	Vacío	$8,64^{b}$	$12,53^{b}$	$5,72^{b}$	$2,84^{b}$
	Bolsa	$10,05^{a}$	$12,73^{a}$	$5,09^{a}$	$2,78^{ab}$
	Bote	$10,46^{a}$	$12,76^{a}$	$4,98^{a}$	$2,73^{a}$

$^{a, b, c}$ Letras distintas indican diferencias significativas (<5%)

Con el paso del tiempo han ido aumentando la humedad y la proteína y disminuido la fibra y las cenizas. El efecto ha sido mayor en las cámaras, que en la nave a temperatura ambiente, lo que ha sido debido a la alta humedad relativa de la cámara de 4ºC (72%) y a los procesos de congelación y descongelación en la de –20ºC. Otros autores han señalado efectos diversos sobre la composición química, mayores a mayor temperatura de conservación (Smith, 1973; Molloy y col., 1974; Kohn y Allen, 1990) y sobre la digestibilidad (Delgado y col, 2000).

La mayor estanqueidad se consigue con los envases de vidrio, seguida del envase al vacío y de la bolsa de cremallera y el bote de plástico, que resultan los menos estancos, aunque hay que recordar que habían sido eliminadas las 15 bolsas de cremallera conservadas a –20ºC.

BIBLIOGRAFÍA: Delgado y col. (2000) Anim. Feed Sci. Techn. 87:187-201; Gómez y col. (1993) Nuevas Fuentes Alimentos Prod. Animal IV: 343-353;Kohn y Allen (1990) J. Dairy Sci. 73: 128; Molloy y col.(1974) J. Sci. Food Agr. 25: 595-606; Smith (1973) J. Br. Grassld. Soc. 28: 129-134

EFECTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL SUELO SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS PASTOS DE MONTAÑA EN PALENCIA

Acero Adámez, P.
Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (Universidad de Valladolid)

INTRODUCCIÓN

La zona norte de Palencia participa de la continuidad del sistema montañoso de la Cordillera Cantábrica; la altitud de la mayor parte de su superficie supera los 1.000 m, con una orografía accidentada y pendientes pronunciadas. Sobre esta superficie se asienta una importante cabaña ganadera de la especie vacuna, fundamentalmente de aptitud carne, que siguen unos modelos de producción clásicos de montaña, con una coincidencia de partos alrededor del final del invierno y venta de los terneros hacia el mes de octubre. Este subsector tiene una gran importancia tanto económica como social por cuanto está plenamente integrado en el modelo vigente de la ganadería de la zona, que utiliza recursos de difícil uso alternativo y mantiene ecosistemas y población rural.

Sin embargo, existe un profundo desconocimiento de los recursos pastables sobre todo en cuanto a su contenido en nutrientes. Con este trabajo se pretende contribuir a determinar, de forma preliminar, la calidad de la biomasa pastable de tres comarcas de esta zona, en función de las características de sus suelos. En general, los datos existentes para los pastos pertenecen a estados avanzados de crecimiento, faltando información de los estados fenológicos precedentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realiza en tres comarcas, dentro de lo que es el conjunto de la montaña de Palencia: Cervera, ubicada en la parte central del conjunto de la superficie y la más llana, Pernía, situada en la zona noreste, y Pantanos, en la parte más septentrional.

Se tomaron muestras de suelo en las distintas comarcas, correspondiendo los suelos S1 a S9 a la comarca de Cervera; los S23 a S32 a la de los Pantanos, y los S33 a S47 a la comarca de la Pernía; los resultados de los análisis de estos suelos aparecen expuestos en la tabla 1. Aunque no se ha recogido en este cuadro, se ha de resaltar el alto contenido en materia orgánica de todas las muestras, que siempre superó el 5 por ciento; las muestras de suelos fueron recogidas de acuerdo con la metodología indicada en las normas del MAPA, respecto a la forma, método y almacenamiento de las mismas. En los mismos lugares que se toman las muestras de suelo, se recogieron muestras de forraje en cada una de las comarcas: en la de Cervera se tomaron en los días 20 a 22 de junio de 2000; en Pantanos, del 7 a 10 de julio y en Pernía, del 13 al 16 de julio de ese mismo año. Su contenido en materia seca (MS) fue determinado en estufa de aire forzado durante 48 h a 65 ºC; la materia orgánica (MO), por incineración a 500 ºC durante 5 h; la proteína bruta (PB) como N Kjeldahl x 6,25, y la fibra neutro detergente (FND) y fibra ácido detergente (FAD) según el método de Goering y Van Soest (1970).

El análisis estadístico se realizó sometiendo los resultados a análisis de varianza, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS, 1990). Las comparaciones entre medias se realizaron utilizando el test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los suelos son de textura franco-arcillosa, en su mayoría, en las comarcas de Cervera y Pernía; la textura franca es predominante en Pantanos. En general, los suelos son ácidos en todas las comarcas, dándose los valores más bajos en la comarca de Pernía, donde todos ellos tomaron valores de pH inferiores a 6 (cuadro 1). Los valores del fósforo son también bajos en la mayoría de los suelos, distando del valor de 25 ppm, aconsejable según distintos autores, lo que va a limitar el desarrollo de especies leguminosas, con el consiguiente efecto sobre el contenido proteico de los pastos.

Los resultados obtenidos en el análisis de los forrajes, aparecen expuestos en los cuadros 2, 3 y 4 para las comarcas de Cervera, Pantanos y Pernía respectivamente. Los pastos de la comarca de Pernía presentan los valores más altos en MS, FND y FAD, lo que se correlaciona con la fecha tardía de su recolección; a su vez en esta comarca se dieron valores para la PB, inferiores al 9 por ciento en las muestras de pastos de todos los suelos, con diferencias significativas entre ellos: los suelos con los valores de pH más bajos coincidieron con los porcentajes significativamente menores ($P<0,05$) de PB y de forma similar fue la respuesta para el contenido de fósforo en suelo. En las otras dos comarcas se obtuvieron valores más altos para el contenido en proteina; según el ARC (1980), un contenido en proteína inferior al 9% resulta insuficiente para satisfacer las necesidades de los microorganismos del rumen, si bien la obtención de la materia orgánica digestible y su relación con la proteina bruta aportaría una información más sólida (Hogan, 1982).

En todas las comarcas se observó una relación inversa entre el contenido en proteina y las fracciones fibroso-detergentes. En la comarca de Cervera el valor de PB significativamente más bajo correspondió a un forraje con valores de FND superiores a 60,10 ± 5,86 por ciento; además el valor de pH de esos suelos no alcanzó 5,9 y con una relación Ca/P próxima a la unidad. El valor de FND más bajo en esta zona se correspondió con valores para la proteina, por encima del 10 por ciento, con valores de pH en el suelo de 6,07 y relación Ca/P de 3,5. Esta situación se reproduce en la comarca de Pantanos.

Cuadro 1.- Características del suelo de las tres comarcas consideradas.

Suelo	pH	Textura	P	K	Ca	Mg	Na	CIC (2)
		1	ppm	ppm	meq/100g	meq/100g	meq/100g	meq/100g
S1	6,07	FAc	5	88,10	17,49	1,89	0,12	18,75
S2	6,18	FAc	4	110,50	12,79	2,14	0,13	26,88
S4	5,79	FAr	15	69,75	4,55	0,66	0,09	9,38
S5	5,82	FAc	8	111,60	5,90	0,95	0,08	9,38
S6	5,95	FAc	5	116,40	17,40	2,55	0,12	31,88
S9	5,86	FAc	8	96,65	8,67	1,13	0,14	23,75
S23	6,12	F	5	54,85	11,99	1,26	0,04	24,06
S24	7,21	F	4	132,95	22,78	1,09	0,05	20,94
S26	6,36	F	8	61,45	21,32	0,78	0,10	30,31
S27	6,12	F	5	110,95	15,57	1,91	0,06	30,63
S29	6,28	F	5	107,10	14,64	1,52	0,08	35,63
S30	5,93	F	9	187,95	7,16	1,07	0,04	22,5
S31	5,82	FAr	35	184,10	8,29	0,63	0,06	31,88
S32	5,7	F	32	168,70	6,14	0,66	0,04	25,00
S33	5,96	AcG	11	112,60	17,54	2,18	0,10	28,13
S34	5,34	AcG	9	124,70	10,11	1,13	0,12	30,00
S35	5,46	FAc	13	125,25	8,06	1,23	0,09	28,13
S36	5,72	FAc	7	135,70	9,72	1,11	0,09	30,00
S37	5,41	F	12	278,15	3,15	0,72	0,03	20,63
S39	5,85	FAc	6	121,40	12,70	0,93	0,09	28,13
S40	5,7	FAc	9	106,00	5,31	1,21	0,06	23,13
S41	5,66	FAc	16	114,80	8,24	1,23	0,06	45,63
S42	5,77	FL	7	97,20	13,91	1,63	0,14	33,13
S44	5,84	FAc	8	111,75	13,88	1,36	0,13	27,81
S46	5,46	FAc	6	153,55	10,70	1,51	0,15	29,06
S47	5,84	FAc	5	99,10	15,96	1,61	0,1	28,44

(1): FAc: franco arcilloso; FAr; franco arenoso; FL: franco limoso; F: franco; AcG: arcilla gruesa.
(2): capacidad de intercambio catiónico.

Cuadro 2.- Influencia del suelo en el valor nutritivo del pasto de la comarca de Cervera

	N	MS %	CENIZAS % MS	MO % MS	FND % MS	FAD % MS	PB % MS
S1	4	29,44±1,44	6,82±1,40	93,18±1,40	50,76±2,22 C	33,49±1,95	10,55±2,02 A
S2	3	28,91±3,13	7,30±0,80	92,70±0,80	52,98±2,37 BC	34,34±1,85	9,77±1,38 AB
S4	3	30,85±1,03	6,22±0,98	93,77±0,98	63,19±4,06 A	36,18±2,02	9,12±1,03 AB
S5	3	29,46±3,97	6,94±0,48	93,08±0,48	58,08±5,23 ABC	34,66±2,66	9,21±1,64 AB
S6	3	34,68±3,86	7,79±1,25	92,20±1,25	54,23±5,21 BC	34,04±1,62	10,51±0,98 A
S9	5	31,29±3,96	6,94±0,60	93,06±0,60	60,10±5,86 AB	34,45±3,89	7,69±1,59 B

ABC: medias en la misma columna con diferente letra son diferentes entre sí (P<0,05)

Cuadro 3.- Influencia del suelo en el valor nutritivo del pasto de la comarca de Pantanos

	N	MS %	CENIZAS % MS	MO % MS	FND % MS	FAD % MS	PB % MS
S23	4	35,46±6,83	7,77±0,98 A	92,23±0,98 B	49,17±5,75 B	31,11±3,11 AB	9,27±0,86
S24	5	31,19±3,17	7,06±1,58 AB	92,93±1,58 AB	51,87±7,11 AB	30,98±3,13 AB	9,75±1,09
S26	4	32,19±4,27	6,32±0,75 AB	93,67±0,75 AB	52,73±1,27 AB	30,62±3,06 B	9,40±0,48
S27	5	36,61±8,30	6,57±1,25 AB	93,43±1,25 AB	55,64±2,18 AB	32,99±0,49 AB	8,14±1,04
S29	4	31,99±3,69	7,21±0,88 AB	92,79±0,88 AB	52,46±6,90 AB	33,77±2,51 AB	9,26±2,40
S30	5	30,96±5,58	5,97±0,84 AB	94,03±0,84 AB	54,60±6,87 AB	31,41±0,89 AB	9,51±2,13
S31	4	35,31±7,07	5,61±1,51 B	94,39±1,51 A	59,53±7,02 A	34,27±1,15 A	8,76±2,01
S32	3	36,83±6,32	5,75±1,25 B	94,25±1,25 A	57,20±4,75 AB	33,02±1,39 AB	10,21±1,74

AB: medias en la misma columna con diferente letra son diferentes entre sí (P<0,05)

Cuadro 3.- Influencia del suelo en el valor nutritivo del pasto de la comarca de Pernía

	N	MS %	CENIZAS % MS	MO % MS	FND % MS	FAD % MS	PB % MS
S33	3	38,05±7,92	6,93±0,95	93,07±0,95	51,13±7,87	33,15±1,36	7,47±1,08 ABCD
S34	6	37,20±7,68	6,06±0,73	93,93±0,73	53,33±9,07	32,00±2,69	8,63±0,56 AB
S35	5	34,67±4,99	6,74±0,44	93,25±0,44	56,60±7,02	35,22±1,48	8,44±0,88 ABC
S36	3	40,23±4,73	6,47±1,60	93,52±1,60	57,10±8,63	35,63±2,00	7,48±1,20 ABCD
S37	3	38,89±6,99	6,24±0,32	93,76±0,32	60,81±2,75	34,34±0,89	7,51±1,22 ABCD
S39	3	41,15±5,87	6,08±0,94	93,92±0,94	58,66±0,43	35,64±1,59	6,65±0,53 BCD
S40	3	38,01±7,87	6,32±1,52	93,68±1,52	53,42±8,92	36,17±8,69	7,30±1,95 ABCD
S41	3	39,74±8,34	6,55±0,44	93,44±0,44	53,39±6,69	35,79±3,73	7,49±0,30 ABCD
S42	3	34,06±2,08	7,15±0,84	92,84±0,84	52,89±1,63	33,38±0,65	8,32±1,62 ABC
S44	5	39,76±6,80	7,04±0,78	92,95±0,78	49,71±3,67	35,71±2,84	8,76±0,99 A
S46	3	43,26±1,28	5,86±0,97	94,13±0,97	58,25±8,35	35,48±2,66	6,14±1,30 D
S47	3	42,81±5,59	6,14±0,36	93,86±0,36	53,03±1,22	33,07±0,83	6,47±1,22 CD

ABCD: medias en la misma columna con diferente letra son diferentes entre sí (P<0,05)

BIBLIOGRAFÍA

A.R.C., 1980. The nutrient requeriment of ruminant livestock. Technical review by an Agricultural Research Council Working party. Commomwealth Agriculture Bureaux.

GOERING, H. K. y VAN SOEST, P. J., 1970. Forage analyses. Apparatus, reagent, procedures and some application. USDA. Agricultural Research Service. Handbook Nº 379. Washington, D. C.

HOGAN, J. D., 1982. Nutritional Limits to Animal production from Pastures. (Hacker, J. B. ed.), p. 245.

SAS, 1990. Statistical Análisis System. Institute User´s Guide (V6 4th Ed.) Cary NC.

EFECTO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL SUELO SOBRE EL CONTENIDO EN MINERALES DE LOS PASTOS EN LA ZONA DE LA MONTAÑA DE PALENCIA

Acero Adámez, P.
Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias (Universidad de Valladolid)

INTRODUCCIÓN

La superficie ocupada por terrenos comunales, en la zona Septentrional de España, es muy importante, siendo los pastizales los más representativos dentro de ellos. El norte de Palencia participa de esta situación, manteniendo sus pastizales una importante cabaña ganadera de aptitud cárnica, principalmente vacuno, ovino y equino; los animales aprovechan a diente estos pastos, durante 6 meses al año, dentro de los modelos de producción extensiva que siguen. La condición de comunales de estas superficies, hace que las prácticas de abonado sean generalmente inexistentes, por lo que las únicas extracciones posibles, por parte de la biomasa vegetal, tendrán lugar a partir de los nutrientes disponibles en el suelo. Este trabajo preliminar, pretende estimar los contenidos en minerales del suelo, y correlacionarlos con los del forraje, en una área limitada de esta zona.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de suelo que corresponden a tres comarcas de este espacio geográfico del norte de Palencia; se analizaron las distintas variables que recoge Acero (2001) en un trabajo anterior. Para cada una de las comarcas se tomaron muestras de forraje verde, en las que se analizó su contenido en algunos macrominerales. El muestreo se realizó en el período comprendido entre el 20 de junio y el 20 de julio del año 2000. Las muestras para análisis de suelos se obtienen de los mismos lugares que se toman las muestras de plantas. El fósforo (P) se determinó por colorimetría, el potasio (K) por fotometría de llama y el resto de minerales por espectroscopía de absorción atómica (Duque, 1971).

Los análisis de varianza se realizaron asumiendo una significación $P<0,05$ y la separación de medias se realizó con el test de Duncan ($P<0,05$). Se utilizó para el tratamiento el paquete estadístico de SAS (1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el trabajo anterior referido (Acero, 2001), se determinaron los valores de los minerales en el suelo; se pone de manifiesto los bajos niveles de fósforo; los niveles medios del resto de minerales tomaron valores inferiores a lo que aconsejan diferentes autores, salvo los valores del calcio y del potasio, lo que facilita desequilibrios importantes en la relación correspondiente entre estos iones y con todos los demás.

Los cuadros 1, 2 y 3 recogen los resultados de los análisis de minerales en el pasto, para las comarcas de Cervera, Pantanos y Pernía respectivamente. Se observa una relación directa entre los contenidos de minerales en suelo y en planta, de tal modo que en todas las comarcas, los niveles de Ca y K en el pasto estuvieron por encima de los niveles de necesidades mínimas que establece el NRC (1995) para vacuno de carne.

De forma general, los iones que presentaron niveles por debajo de esas recomendaciones, fueron sobre todo el sodio y el fósforo produciéndose esta situación en todas las comarcas; las muestras de forraje de la comarca de Pernia, mostraron los valores absolutos más bajos en fósforo, no siendo diferentes significativamente entre ellos, salvo en el suelo S46 que alcanzó el valor más alto y significativamente diferente, ligado a valores de Ca bajos. En suelos ácidos se puede producir una solubilización y paso a la solución del suelo, de iones Fe^{3+}, con precipitación posterior en forma de PO_4Fe o absorberse los iones fosfóricos sobre partículas muy finas de caliza o que se fijen sobre el complejo arcillo-

húmico mediante puentes de calcio (Busqué y col., 1995). García (1983) encuentra un mayor poder de retención del fósforo en suelos ácidos. Carpintero y col. (1991) consideran que la sequía estival explicaría el descenso de P y el incremento en Ca del forraje, con una relación Ca/P más elevada en los cortes de verano.

Las muestras de forraje de la comarca de Cervera también tomaron valores para el fósforo, por debajo de los niveles considerados adecuados por el NRC (1995); no obstante, los resultados fueron más altos que en las otras comarcas, lo que se correlaciona con una fecha anterior en cuanto a recogida del pasto, y a los valores más altos del pH de sus suelos (próximos o ligeramente superiores a 6).

En la comarca de Pantanos se obtuvieron valores también muy bajos en el contenido de fósforo de las plantas y con diferencias significativas entre los distintos suelos; el valor más bajo correspondió a las muestras de forraje del suelo S23, que fue diferente significativamente del observado en los suelos S27 y S32 y no lo fue del resto de los suelos de esta comarca. Los niveles de Ca en los suelos S32 fueron excepcionalmente bajos (pH = 5,7) y los de P muy altos, lo que se tradujo en que los forrajes de este suelo alcanzaran los valores más altos para el fósforo.

A la vista de los resultados de las tres comarcas, parece que el contenido en fósforo del pasto es el más influenciado por su contenido en el suelo, ligado tanto al desequilibrio que presenta con el calcio como a la fijación del mismo por el suelo; en estos suelos donde el pH no es excesivamente ácido (pH>5,5), las deficiencias se podrían corregir con abonado fosfórico de fondo.

El nivel del sodio de las muestras de forraje de todas las comarcas no alcanzó el valor mínimo de 0,06 por ciento, considerado como adecuado para ganado vacuno en extensivo según distintos autores. Se apreció una correlación directa entre el nivel de este macromineral en el pasto y su concentración en suelo. En la comarca de Cervera, los valores más altos correspondieron a los forrajes de los suelos S1, S6 y S9 que fueron estadísticamente diferentes a los demás forrajes de esta comarca y no entre ellos; los niveles de sodio en estos suelos fueron los más altos, así como la capacidad de intercambio catiónico. Esta situación se reprodujo en los forrajes de las otras dos comarcas como se aprecia en los cuadros correspondientes (cuadros 2 y 3). El aporte de este ión en forma de sal debe ser una práctica necesaria para la ganadería de estas zonas.

Cuadro 1.- Influencia de las características del suelo de la comarca de Cervera sobre el contenido en minerales del pasto

	N	P %	K %	Ca %	Mg %	Na %
S1	4	0,147±0,05	1,115±0,24	0,502±0,07AB	0,157±0,00 AB	0,037±0,02 A
S2	3	0,113±0,01	1,203±0,11	0,513±0,06 AB	0,133±0,02 B	0,010±0,01 B
S4	3	0,167±0,05	1,203±0,23	0,200±0,11 C	0,126±0,01 B	0,010±0,00 B
S5	3	0,133±0,02	1,453±0,36	0,326±0,11 BC	0,126±0,05 B	0,003±0,00 B
S6	3	0,143±0,07	1,333±0,30	0,693±0,21 A	0,200±0,08 A	0,020±0,02 AB
S9	5	0,170±0,06	1,338±0,31	0,328±0,19 BC	0,104±0,02 B	0,018±0,01 AB

Cuadro 2.- Influencia de las características del suelo de la comarca de Pantano sobre el contenido en minerales del pasto

	N	P %	K %	Ca %	Mg %	Na %
S23	4	0,095±0,01 C	1,400±0,23	1,085±0,31 A	0,155±0,02 A	0,010±0,00 B
S24	5	0,112±0,01 ABC	1,176±0,39	0,684±0,21 B	0,170±0,03 A	0,012±0,00 B
S26	4	0,107±0,02 BC	1,125±0,27	0,582±0,15 B	0,152±0,02 A	0,010±0,00 B
S27	5	0,150±0,02 AB	1,504±0,38	0,360±0,12 B	0,132±0,02 AB	0,008±0,00 B
S29	4	0,115±0,01 ABC	1,477±0,20	0,707±0,26 B	0,155±0,04 A	0,008±0,00 B
S30	5	0,114±0,02 ABC	1,146±0,09	0,518±0,24 B	0,136±0,04 AB	0,008±0,00 B
S31	4	0,115±0,04 ABC	1,017±0,05	0,382±0,18 B	0,095±0,01 B	0,005±0,01 B
S32	3	0,153±0,05 A	1,123±0,63	0,496±0,26 B	0,120±0,05 AB	0,030±0,03 A

Cuadro 3.- Influencia de las características del suelo de la comarca de Pernía sobre el contenido en minerales del pasto

	N	P %	K %	Ca %	Mg %	Na %
S33	3	0,120±0,02 B	1,076±0,37 B	0,976±0,01 AB	0,190±0,01 AB	0,010±0,00
S34	6	0,127±0,03 B	1,078±0,14 B	0,647±0,40 AB	0,142±0,04 AB	0,015±0,01
S35	5	0,108±0,03 B	1,198±0,17 B	0,666±0,31 AB	0,152±0,03 AB	0,008±0,01
S36	4	0,090±0,01 B	1,267±0,15 B	0,755±0,57 AB	0,122±0,06 AB	0,010±0,00
S37	3	0,120±0,01 B	1,580±0,15 A	0,383±0,11 B	0,110±0,02 B	0,010±0,00
S39	3	0,093±0,02 B	1,190±0,34 B	0,563±0,15 AB	0,147±0,04 AB	0,010±0,00
S40	3	0,106±0,04 B	1,083±0,05 B	0,820±0,50 AB	0,197±0,10 AB	0,010±0,01
S41	3	0,113±0,04 B	1,146±0,30 B	0,840±0,40 AB	0,177±0,07 AB	0,013±0,00
S42	3	0,090±0,01 B	0,940±0,09 B	0,810±0,18 AB	0,197±0,03 AB	0,026±0,01
S44	5	0,106±0,02 B	1,060±0,22 B	1,090±0,20 A	0,198±0,02 A	0,034±0,04
S46	3	1,590±2,63 A	1,113±0,09 B	0,560±0,42 AB	0,140±0,05 AB	0,010±0,00
S47	3	0,070±0,01 B	0,973±0,10 B	0,776±0,16 AB	0,170±0,01 AB	0,007±0,00

BIBLIOGRAFÍA

BUSQUÉ, J., FERNÁNDEZ, B., ALFAGEME, A. y SARMIENTO, M., 1995. Comportamiento ecológico y productivo de dos tipos de pastizales de montaña en Cantabria. SEEP Reunión Científica. pp 295-300.

CARPINTERO, C., SUÁREZ, A. y PASCUAL, M. R., 1991. Producción y calidad de varias gramíneas en cultivo monofito y en asociación. Pastos, 20-21: 3-17.

DUQUE, M. F., 1971. Determinación conjunta de fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, cobre y zinc en plantas. Anales de Edafología y Agrobiología, 30. pp 207.

NRC, 1996. Nutrient Requirement for beef cattle.

SAS, 1990. Statistical Análisis System. Institute User´s Guide (V6 4th Ed.) Cary NC.

LA UTILIZACIÓN DE POLISACARIDASAS MEJORA LA ACCESIBILIDAD DE LOS ENZIMAS PROTEOLÍTICOS SOBRE LA TORTA DE SOJA.

I. Ouhida, D.Martinez-Puig, J.F. Pérez, R. Sala y J.Gasa
Departament de Ciencia Animal i dels Aliments, Facultad de Veterinaria
Universidad Autónoma de Barcelona

INTRODUCCION

Las recientes limitaciones establecidas al uso de ingredientes de origen animal como suplementos proteícos en alimentación animal, impulsa si cabe un mayor interés por conocer y mejorar ingredientes proteicos de origen vegetal. Entre ellos destaca por su mayor utilización la torta de soja. En particular, la harina de soja es un subproducto de la extracción de aceite con un contenido en proteína bruta elevado (alrededor del 42-52%), que le colocan como uno de los subproductos agrícolas más valiosos y apreciados. Sin embargo, la presencia de ciertos α-galactósidos puede reducir su valor nutritivo en animales monogástricos, sobre todo en aves (Leske et al., 1993). Como consecuencia, la digestibilidad de la materia seca y energía de la torta de soja es relativamente reducida con respecto a los cereales y presenta expectativas razonables de mejorar su valor nutritivo. Entre estas posibles mejoras destacaría el 10 - 15% de los Aas, considerados no digestibles por el NRC, (1994).

Junto a la presencia de α-galactósidos indigestibles (en torno al 5% de rafinosa + estaquiosa), la presencia de niveles apreciables de polisacáridos no amilaceos indigestibles solubles ó insolubles (±20%PNA) puede limitar la accesibilidad de los enzimas a la proteína.

La disponibilidad reciente de numerosos complejos enzimáticos, como hemicelulasas, celulasas, pectinasas, xilanasas y proteasas podría mejorar la utilización energética y proteica de la torta de soja. El objetivo del presente trabajo ha sido estudiar la accesibilidad *in vitro* de diferentes enzimas con actividad mayoritariamente carbohidrolítica o proteolítica sobre la torta de soja extractada y tratada térmicamente con diferentes grados de intensidad.

MATERIALES Y METODOS

El presente estudio contempla el efecto de asociar enzimas de actividad carbohidrolasa (Cellulase[1]; Pectinasa[1]; Xilanasa[1]) con una Proteasa sobre una muestra de soja extractada no tostada (NT) o tostada a temperaturas de 85ºC durante 25 minutos (T-85) o 125ºC durante 45 minutos (T-125).

Las muestras fueron separadas en fracciones solubles e insolubles mediante un método propuesto por Huisman et al., (1998). Brevemente, 200g de cada muestra fueron disueltas en 0.8L de agua destilada durante 2h a temperatura ambiente seguido de una ultra-centrifugación a 11000 x g durante 30 minutos. Con los residuos recuperados, l proceso se repitió 4 veces. Los extractos (WS) y los residuos (WU) fueron liofilizados y utilizados como substratos de incubación enzimática.

La incubación *in vitro* de los enzimas se realizó en tubos Kimax (2mL) conteniendo 20 mg-substrato/ mL de buffer (0.05 M acetato sódico, pH 5.0) a una temperatura constante de 40ºC durante 12 h. Al final de la incubación, los enzimas fueron inactivados por ebullición (100ºC durante 10 minutos) y el sobrenadante fue extraído mediante centrifugación (4000 x g durante 5 minutos).

[1] *Biocellulase A Con; Biopectinase NKP; Bioxylanase 10P de la empresa Loders Croklaan, Holanda*

La actividad carbohidrolítica se determinó mediante la medida del porcentaje de liberación de monosacáridos (analizados por cromatografía de gases) del total presente en los substratos incubados. La actividad proteolítica se determinó mediante el análisis de la cantidad de aminoácidos liberados siguiendo el método ACUTAC de Waters.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de fraccionamiento de las muestras mediante la extracción con agua y la composición de sus fracciones (Tabla 1) reflejan que el tostado de la soja redujo la solubilidad de la proteína (59% vs 44% y 36%, respectivamente a 0, 85 y 125°C). Similares descensos se observaron en la solubilidad de la fracción de carbohidratos (41 vs 28 y 22%).

Las diferencias observadas en solubilidad reflejan cambios estructurales de la proteína (desnaturalización) "per se" y de su entramado con los carbohidratos. De hecho, durante la maduración de las células de los cotiledones del grano de soja, el núcleo, las mitocondrias y el retículo endoplasmático son desplazados por "formaciones proteicas" (2-20 μ ∅) rodeadas de numerosas "vesículas lipídicas" (0.2-0.5 μ ∅). Tras el proceso de desengrasado estas vesículas acaban desapareciendo, obteniendose fragmentos de cotiledón formados por células compuestas por un entramado de paredes, comúnmente polisacáridos no amiláceos (PNA: celulosa, hemicelulosas y pectinas), membranas y citoplasma, cuyo contenido en proteína es muy elevado.

Los contenidos en α-galactósidos (rafinosa+estaquiosa) analizados en las fracciones solubles reflejaron una elevada tendencia a solubilizarse en agua (71 vs 41 y 50%, respectivamente a 0, 85 y 125°). Sin embargo, su extracción no es completa como ha sido previamente descrito por Leske et al., (1993).

Tabla 1: *fracciones (%MS^{-1} de la torta de soja) solubles (WS) e insolubles (WU) en agua y composición (%MS-1) en proteína y carbohidratos.*

	Soja original	Soja NT		Soja T-85		Soja T-125	
		WS	WU	WS	WU	WS	WU
Fracciones (%)	100	56	44	39	61	32	68
Total aminoácidos (%)	49.4	nd	47.0	nd	36.8	nd	40.4
Total monosacaridos (%)	24.5	17.9	37.5	17.9	35.4	17.3	36.1
α-galactosidos (%)							
rafinosa	1.40	1.78	nd	1.66	nd	1.74	nd
estaquiosa	3.95	5.02	nd	3.94	nd	6.64	nd

En la tabla 2 se presentan los resultados relativos a la incorporación de los diferentes enzimas sobre el substrato soluble en agua (WS-T-85), determinados como concentración de α-galactosidos (mg/mL) en los sobrenadante después de la incubación de 40mg substrato/mL de buffer. La incubación con proteasa incrementó las concentraciones de rafinosa y estaquiosa en relación al blanco (sin enzimas), reflejando un enlace "proteina-α-galactósidos" que se rompe con una actividad proteolítica simple. La incubación con pectinasa y celulasa, redujo sustancialmente los contenidos en α-galactosidos, resultados que no fueron observados con la xilanasa. La combinación de cada uno de ellos con proteasa, no incrementó el descenso de los α-galactosidos ya mostrado por los diferentes enzimas carbohidrolasas, lo que sugiere la presencia de una cierta actividad proteasa en pectinasa y celulasa.

En la tabla 3 se presentan los resultados relativos al efecto de los diferentes enzimas sobre los sustratos insolubles en agua, medido como porcentaje de monosacaridos liberados y Aas libres en el sobrenadante.

Tabla 2: ***Concentración en α-galactósidos del sobrenadante (mg/ml) despues de la incubación de 40mg/ml de soja T-85º con proteasa y/o diferentes carbohidrolasas.***

	Raf	*Estaq*	*Raf*	*Estaq*	*Raf*	*Estaq*
Blanco	0.37	1.67	-	-	-	-
Proteasa	0.77	2.65	-	-	-	-
Carbohidrolasa "i"	*Pectinasa*		*Celulasa*		*Xilanasa*	
Carbohidrolasa "i"	0.12	1.09	0.50	0.74	0.51	2.22
Carbohidrolasa "i" + Proteasa	0.58	0.83	0.47	1.28	0.45	1.91

En relación a la actividad carbohidrolasa, la pectinasa y la celulasa presentaron porcentajes de monosacaridos liberados superiores a la xilanasa y proteasa por sí solas. La incorporación simultánea de proteasa con carbohidrolasas manifestó una elevada respuesta claramente sinérgica con la pectinasa y la celulasa, aunque no con la xilanasa, lo que demuestra la estrecha relación entre los carbohidratos y la proteina de la matriz. No se observaron diferencias en los efectos principales descritos derivados del tratamiento térmico previo de la soja.

La determinación de los aminoacidos liberados evidenció,también, la elevada actividad proteolítica de los complejos mayoritarios en actividad pectinasa y celulasa. No se observó actividad en el enzima xilanasa. La incorporación simultanea de proteasa con los diferentes carbohidrolasas permitió incrementar la liberación de Aas, en particular de forma aditiva con la pectinasa.

Tabla 3: ***Actividad enzimatica sobre los PNA y la Proteina (Aas) en porcentaje de liberación del total presente en la las fracciones insolubles en agua (WU).***

	Soja NT		**Soja T-85**		**Soja T-125**	
	Azúares libres	Aas libres	Azúares libres	Aas libres	Azúares libres	Aas Libres
Prot.	2.5	3.5	2.7	7.0	3.2	4.8
Pect.	9.2	5.5	7.0	6.0	9.3	5.9
Prot.+Pect.	21.9	9.2	19.8	10.4	21.0	12.3
Cel.	11.7	7.1	8.9	9.7	10.8	8.6
Prot.+Cel.	16.0	8.5	12.0	11.7	14.0	11.1
Xil.	5.0	1.0	4.0	1.8	4.1	1.6
Prot.+Xil	4.2	3.9	4.7	6.4	4.3	7.4

En conclusión los resultados reflejan, por una parte, una actividad interesante de pectinasa y celulasa sobre los α-galactósidos y PNA de pared vegetal, y por otra parte, la disociación del entramado "proteína-carbohidratos" parece mejorar la accesibilidad de los enzimas proteolíticos a la estructuras proteicas presentes en la soja. Sin embargo, los presentes resultados *in vitro* deberán confirmar su utilidad práctica con animales, en cuyo tracto digestivo abundan los enzimas proteolíticos y no se encuentran carbohidrolasas de pared vegetal como pectinasas y celulasas.

AGRADECIMIENTO:

El presente trabajo ha sido realizado en el marco de un convenio entre la Universidad Autonoma de Barcelona y la empresa Loders Crocklaan (ref: 162039), con financiación del proyecto 2FD 1997-1470.

REFERENCIAS:

Huisman, M.M.H., Schols, H.A. and Voragen, A.G.J. (1998). Cell wall polysaccharides from soybean (Glycine max.) meal. Isolation and characterisation. Carbohydrate-Polymers, 37: 1, 87-95.

Leske, K.L., Jevne, C.J. and Coon, C.N. (1993). Nutrient content and protein and energy digestibilities of ethanol-extracted, low α-galactoside soybean meal as compared to intact soybean meal. Poult. Sci., 78: 1177-1183.

NRC, (1994). Nutrient Requirements of Poultry, 9th rev. Ed.National Academy Press. Washington.

APLICACIÓN DE LA ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE IONIZACIÓN POR ELECTROSPRAY AL ANÁLISIS SIMULTANEO DE INSULINA E IGF-II

Tor, M.; Villalba, D.; Cubiló, M.D.; Molina, E.; Vilaró, F. [1] y Estany, J.

Departament de Producció Animal. UdL. Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.
[1]Departament de Química. UdL. Rovira Roure, 177. 25198 Lleida.

INTRODUCCIÓN

Los factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs) son hormonas peptídicas con propiedades metabólicas multifuncionales (McMurtry et al., 1997). Juntamente con la hormona del crecimiento son el principal punto de integración entre el control endocrino del crecimiento y el estado nutricional del animal, al tiempo que existen evidencias de variaciones genéticas en los IGFs relacionadas con la velocidad de crecimiento (Clutter et al., 1995). En la actualidad la técnica analítica mas frecuente en la determinación de los niveles plasmáticos de estas hormonas proteicas es el radioinmunoensayo. Para realizar correctamente estas determinaciones es necesaria la eliminación previa de las interacciones que sobre los IGFs ejercen sus proteínas portadoras (IGFBPs), por las que presentan una alta afinidad. Para ello, la solución mas eficaz (Lee y Henricks, 1990) es separar los IGFs de las IGFBPs mediante cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC). En la actualidad, la existencia de sistemas que combinan la espectrometría de masas (MS) con equipos RP-HPLC permite plantear la posibilidad de cuantificar directamente los niveles plasmáticos de IGFs a la salida de la columna. Con esta técnica, se pueden identificar complejos proteicos (Pandey y Mann, 2000) y se alcanzan altas sensibilidades de detección si se restringe el intervalo de masas de lectura. Además presenta dos ventajas adicionales: poder realizar determinaciones simultáneas de diferentes hormonas y facilidad de adaptación al plasma de diferentes especies animales. En este estudio, mediante la utilización de patrones, se tratará de optimizar las condiciones del trabajo del sistema RP-HPLC/MS, establecer cuales son las masas que confieren mayor sensibilidad y selectividad para la insulina y el IGF-II y calcular su curva de respuesta, en solución acuosa, a concentraciones similares a las del plasma sanguíneo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La insulina utilizada es de páncreas porcino suministrada por Sigma-Aldrich (Steinheim. Germany). El IGF-II utilizado es humano recombinante producido en *E.coli* y suministrado por GroPep (North Adelaide, Australia). Los patrones fueron reconstituidos en ácido fórmico 0,1M. El sistema utilizado es un módulo de separación Waters Alliance 2690 con un MS acoplado Micromass ZMD 2000MS. Para determinar el espectrograma de masas completo de los patrones se realizó la inyección por infusión directa registrando a distintos voltajes de cono (10V, 30V, 50V, 70V y 100V). Una vez determinadas las masas y voltajes óptimos de registro, se realizó la separación de mezclas de patrones mediante una columna Symmetry C_4 (2,1×150 mm, 300 Å, 5 μm; Waters Corporation, Milford, USA). Dicha separación permite una cuantificación efectiva de las hormonas. Se registraron 2 canales en modo Select Ion Recording (SIR): uno con las 2 masas seleccionadas para la

insulina (964amu a 30V y 1156amu a 50V) y otro con las masas seleccionadas para el IGF-II (934amu a 30V y 1068amu a 50V). El ajuste de las curvas lineales se realizó mediante el procedimiento REG y el ajuste de las curvas logarítmicas mediante el procedimiento NLIN, ambos del programa SAS, 1999.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede observar el espectrograma de masas para la insulina. No se presentan las lecturas realizadas a voltajes superiores a 50V debido a que no aparecieron masas claramente más abundantes o presentaron abundancias similares a las realizadas a 50V pero con mayor ruido de fondo. La lectura realizada a 10V se desestimó y tampoco se presenta, debido a que las masas más abundantes son sensiblemente inferiores a las que se obtuvieron en las lecturas realizadas a 30V y 50V. Para obtener un equilibrio entre sensibilidad y selectividad se decidió leer la insulina con un SIR de 2 masas : 964amu a 30V y 1156amu a 50V. Para el IGF-II se desarrolló un proceso paralelo escogiéndose también un SIR de 2 masas: 934 amu a 30V y 1068amu a 50V.

En la Figura 2 se presentan los cromatogramas de la insulina y el IGF-II a una concentración de 500 ng/ml. En estas condiciones de trabajo, el IGF-II presentó un tiempo de retención 1,17' inferior al de la insulina. Fue posible la integración correcta de ambos picos a partir de una concentración de 250 ng/ml. En ambos SIRs la señal registrada del compuesto para el que las masas no estaban optimizadas, no superó el 2% de la señal obtenida cuando si lo estaban. Por tanto este método de registro presenta una elevada selectividad para estos dos compuestos.

Como se observa en la Figura 3, para el intervalo estudiado, el ajuste lineal para la respuesta de la insulina fue aceptable, mientras que para el IGF-II el mejor ajuste es a una función logarítmica. Como resumen de este trabajo preliminar puede decirse que con la metodología utilizada se puede cuantificar simultáneamente la insulina y el IGF-II en soluciones acuosas, en el mismo rango de concentraciones que tiene el IGF-II en el plasma sanguíneo. Para poder cuantificar la insulina a sus niveles plasmáticos deberá mejorarse la sensibilidad. Los cromatogramas, cuando la matriz fue el plasma sanguíneo, mostraron un elevado ruido de fondo en el tiempo de retención de ambos compuestos. Por ello, para desarrollar un método de análisis en plasma, que permita mantener el mismo nivel de sensibilidad, probablemente será necesario realizar un fraccionamiento previo del mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Clutter, A. C.; Spicer, L. J.; Woltmann, M. D.; Grimes, R. W.; Hammond, J. M.; Buchanan, D. S.(1995). **Journal of Animal Science** *73*, 1776-1783

Lee, C. Y. ; Henricks, D. M. (1990). **Journal of Endocrinology**, 127, 139-148.

McMurtry, J.P.; Francis, G.L.; Upton, Z. (1997). **Domestic Animal Endocrinology** 14, 199-229.

Pandey, A.; Mann, M. (2000). **Nature** 405: 837-846.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por la CICYT (proyecto AGF99-1221)

Figura 1. Espectrogramas de masas de la insulina a diferentes voltajes de cono.(← masas de registro seleccionadas)

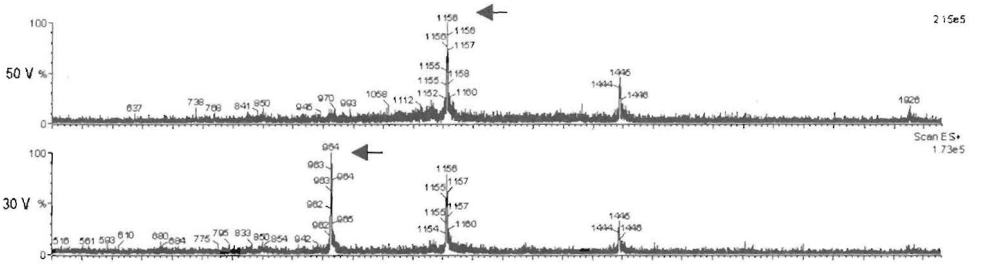


Figura 2. Cromatogramas simultáneos de IGF-II (SIR a 934amu a 30V y 1068amu a 50V) e insulina (SIR a 964amu a 30V y 1156amu a 50V) a una concentración de 500ng/ml

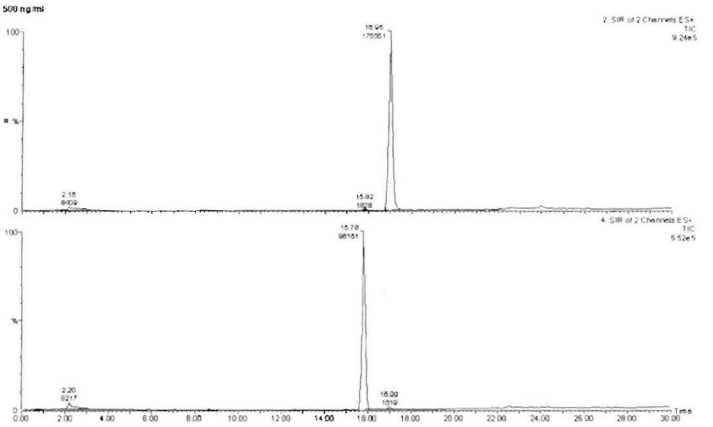
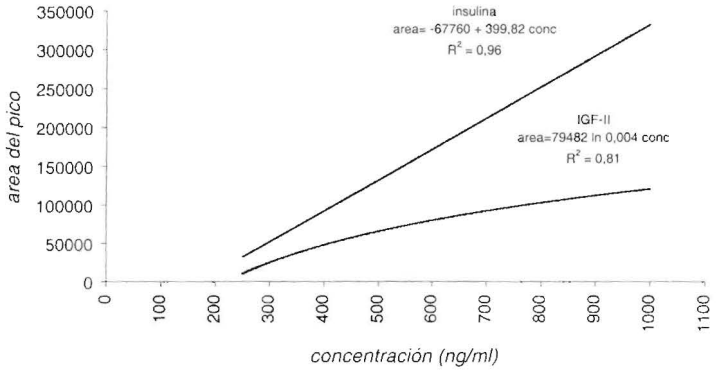


Figura 3. Curva de respuesta del IGF-II (SIR a 934 amu a 30V y 1068amu a 50V) e insulina (SIR a 964amu a 30V y 1156amu a 50V)



DEGRADACIÓN DEL ADN DE SOJA TRANSGÉNICA INCUBADA "IN VITRO" CON ENZIMAS DIGESTIVOS ESTIMADA MEDIANTE QC-PCR.

Martín-Orúe, S. M.[1], Ariño, J.[2], Barceló, A.[2], Mathers, J.[1], y Gilbert, H. J.[1]

1. *Biological and Nutritional Science Departament. University of Newcastle. UK.*
2. *Servei de Seqüenciació de Acids Nucleics. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra*

INTRODUCCIÓN

La reciente aplicación de técnicas de ingeniería genética para la mejora de plantas de interés agronómico y su difusión comercial, ha hecho que en la actualidad gran parte de las dietas de nuestros animales contengan lo que se ha venido denominando organismos genéticamente modificados (OGMs).

Una de las mayores preocupaciones que despierta la inclusión de alimentos transgénicos en la dieta, es la posibilidad de transferencia de estos nuevos genes a los microorganismos de la flora intestinal o bien incluso a las propias células del animal hospedador. Tal posibilidad suele desdeñarse asumiendo la rápida degradación del ADN exógeno por parte de los enzimas digestivos. Sin embargo existen muy pocos trabajos que estudien la degradación del ADN en el tracto digestivo utilizando técnicas suficientemente sensibles que permitan detectar pequeñas cantidades de ADN (Schubbert y col., 1994, 1997).

El objetivo del presente trabajo fue el de estudiar la degradación del ADN transgénico de soja tras su digestión "in vitro" con enzimas digestivos mediante la técnica de PCR cuantitativo de competencia (QC-PCR), así como estudiar el posible efecto protector de la matriz del alimento sobre la integridad de su ADN.

MATERIAL Y METODOS

Como fuentes de ADN trasngénico se utilizaron un concentrado protéico de soja, previamente molido, así como su ADN genómico desnudo, purificado utilizando un kit comercial (Wizard DNA clean-up system, Promega). Para la simulación de la digestión gástrica se utilizó pepsina porcina (Sigma) y para la digestión intestinal un homogeneizado de extracto ileal liofilizado obtenido de cinco personas voluntarias que tenían practicadas ileostomías.

El protocolo de incubación fue el siguiente: 50 mg de concentrado protéico de soja o bien el DNA desnudo extraído de la misma cantidad, se incubaron durante una hora a 37 °C con 500 µl de una solución 15 mM de HCl y pepsina (2mg/ml). Tras neutralizar el pH con $NaHCO_3$ se añadieron 50 mg de contenido ileal liofilizado y 200 µl de agua. Las muestras se incubaron durante 5, 10, 15, 30, 60 120 y 180 minutos y tras finalizar cada tiempo de incubación se añadieron 800 µl de hidrocloruro de guanidinio 6 M para detener toda reacción enzimática. Posteriormente las muestras se incubaron durante 3 horas a 58 °C para extraer el ADN que fue purificado mediante un kit comercial (Wizard DNA clean-up system. Promega).

La cantidad de ADN transgénico que resistió el proceso de digestión se cuantificó mediante QC-PCR para lo cual se eligió como ADN diana un fragmento de 180 pb del transgen introducido en la soja y que le confiere resistencia a herbicidas, utilizando los iniciadores publicados por Studer y col. (1998). Como competidor se construyó un plásmido que contenía dicho fragmento con una inserción intermedia de 100 pb.

RESULTADOS Y DISCUSSIÓN

El método de QC-PCR mostró ser válido para la cuantificación de fragmentos de ADN en muestras de contenido digestivo, situándose los niveles mínimos de detección en unas 80 copias. Teniendo en cuenta que a t = 0 se detectaron más de 100.000 copias de los transgenes, nuestro procedimiento fue capaz de detectar hasta un 0.08 % del ADN superviviente. La proteína de soja y el ADN genómico desnudo se eligieron como substratos que pudieran ofrecer condiciones extremas de protección frente a los enzimas digestivos.

La incubación con pepsina y HCl tuvo escaso efecto sobre el ADN de la proteína de soja, sin embargo provocó un drástico descenso del ADN genómico desnudo y tras 60 minutos de digestión el 80.6 ± 3,06 % del los transgénes no fueron detectados (Tabla 1). La sensibilidad del ADN a pHs extremos y la depurinación de la cadena de ADN en soluciones ácidas es bien conocida (Raw, 1983) por lo que el hecho de que el ADN dentro de la matriz del alimento sea resistente a dichas condiciones podría deberse a un efecto tamponador de la soja, especialmente en la parte interior de las partículas donde el pH podría no ser tan extremo.

Tabla 1. Degradación del ADN transgénico de soja o ADN genómico desnudo incubado "in vitro" con pesina-HCl durante una hora y con enzimas intestinales durante 5, 10, 15, 30, 60, 120 y 180 minutos. Los valores están expresados en Logaritmo del numero de copias del ADN transgénico detectadas mediante QC-PCR. Cada reacción contiene el DNA extraído de 0,3 mg de soja.

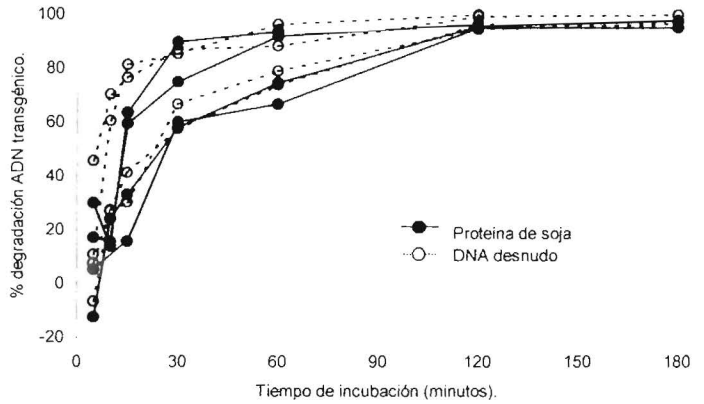
	Digestión gástrica.						Digestión intestinal											
	Minutos		Estadística				Minutos								Estadística			
	0	60	DER	S	T	SxT	0	5	10	15	30	60	120	180	DER	S	T	SxT
Soja	5,30	5,27	0.294	***	*	*	5,27	5,28	5,14	5,21	4,97	4,75	4,10	3,89	0,443	***	***	NS
ADN	4,63	3,93					3,93	3,83	3,54	3,55	3,29	3,15	2,38	1,98				

S: Tipo de susbstrato incubado (harina de soja or DNA genómico desnudo).
T: Tiempo de incubación.
SxT: Interacción substrato x tiempo.
DER. Desviación Estandar Residual. NS. No significativo, $p > 0,10$; *, $p < 0,05$; ***, $p < 0,001$.

La cantidad de ADN transgénico que resistió la digestión con el contenido ileal fue superior para la proteína de soja que para el ADN desnudo (Tabla 1, $P < 0,001$) sin embargo esas diferencias fueron debidas fundamentalmente a que una mayor

cantidad de ADN soportó la incubación con pepsina-HCl. Cuando expresamos los mismos valores con relación a la cantidad que inicialmente fue incubada con el contenido ileal (Figura 1), los resultados no fueron tan diferentes y tras 30 minutos de digestión 48 ± 13,1 y 66 ± 17,5 % del ADN transgénico de la proteína de soja y del ADN desnudo respectivamente habían sido degradados. Cuando dichos resultados porcentuales se ajustaron a un modelo monoexponencial ($y = a\ (1-e^{-kt})$), los ritmos fraccionales fueron algo superiores para el ADN desnudo que para la proteína de soja (0.053 ± 0.0183 vs. 0.022 ± 0.0008), sin embargo las diferencias no alcanzaron la significación estadística, lo que sugiere que el material en la proteína de soja fue capaz de proteger el ADN frente a las condiciones ácidas del estómago pero no frente a las enzimas digestivas del intestino delgado.

Figura 1. Porcentaje de degradación del DNA transgénico de proteína de soja o de DNA genómico desnudo incubado con contenido ileal.



En conjunto, tras la digestión péptica e intestinal un 4,2 ± 1,03 % del ADN transgénico de la soja y un 0.5 ± 0.32 % del ADN genómico desnudo resistieron todo el proceso de digestión. Estos valores aunque indican que el ADN es rápidamente degradado por los enzimas digestivos sugieren que, al menos bajo nuestras condiciones de digestión "in vitro", un pequeño porcentaje sería capaz de superar la barrera intestinal y ser disponible para la población microbiana de los tramos finales del tracto digestivo.

BIBLIOGRAFIA

Rawn, J. D. (1983). En: Biochemistry. p.358. Harper and Row publishers, Inc., New York

Schubbert, R., Lettmann, C. and Doerfler, W. (1994). Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. Mol Gen. Genet. 242: 495-504.

Schubbert, R., Renz, D., Schmitz, B. and Doerfler, W. (1997). Foreign (M13) DNA ingested by mice reaches peripheral leukocytes, spleen, and liver via the intestinal wall mucosa and can be covalently linked to mouse DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 961-966.

Studer, E., Rhyner, C., Lüthy, J. and Hübner, P. (1998). Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified soybean and maize. Z. Lebensm Unters Forsch A 207:207-213.



CIHEAM

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2000-01-02

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	*MEJORA GENETICA VEGETAL	2 Oct. 00/8 Jun. 01	Zaragoza	IAMZ
	MANEJO DE PLANTACIONES DE OLIVO EN CONDICIONES DE SECANO: NUEVAS PERSPECTIVAS. Programa en francés e inglés	22 Ene./2 Feb. 01	Sfax	IAMZ/Institut de l'Olivier/COI
	BIOINFORMATICA: UTILIZACION DE BASES DE DATOS GENETICOS EN MEJORA VEGETAL (Programa en inglés)	17-21 Sep. 01	Zaragoza	IAMZ
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	Oct. 01/Mayo 02	Córdoba	UCO/CAP-JA/CSIC/INIA /COI/IAMZ
	VIVEROS Y PRODUCCION DE PLANTA FORESTAL PARA CONDICIONES MEDITERRANEAS	19-30 Nov. 01	Guadalajara	IAMZ/CNMF
	SISTEMAS DE APOYO A LA DECISION EN AGRONOMIA: MODELIZACION	14-25 Ene. 02	Zaragoza	IAMZ
	AGRICULTURA SOSTENIBLE: GESTION DEL AGUA EN LA AGRICULTURA DE ZONAS SEMIARIDAS	11-22 Mar. 02	Zaragoza	IAMZ
	ELECCION DE CULTIVOS EN CONDICIONES DE SECANO MEDITERRANEAS. CRITERIOS TECNICOS Y SOCIOECONOMICOS	6-17 Abr. 02	Argel	IAMZ/ITGC
	DIAGNOSTICO Y CONTROL DE ENFERMEDADES DE LEGUMINOSAS FORRAJERAS Y DE GRANO ADAPTADAS A CONDICIONES MEDITERRANEAS	6-17 Mayo 02	Córdoba	IAMZ/IAS/CLIMA
	GESTION DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRANEA: SEGUROS AGRARIOS	10-14 Jun. 02	Zaragoza	IAMZ/EESA
PRODUCCIÓN ANIMAL	*PRODUCCIÓN CAPRINA	6-17 Nov. 00	Murcia	IAMZ/CMAAA-RM
	PLANIFICACION Y DESARROLLO DE CAMPAÑAS DE SANEAMIENTO GANADERO	11-15 Dic. 00	Zaragoza	IAMZ/FAO
	REQUISITOS DE CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE RUMIANTES PARA SU COMERCIALIZACION	15-26 Ene. 01	Zaragoza	IAMZ
	PRINCIPIOS ESTADISTICOS EN EXPERIMENTOS DE PRODUCCION ANIMAL: HACIA UNA MEJOR COMPRENSION Y APLICACION DE LOS METODOS MODERNOS	19-23 Feb. 01	Zaragoza	IAMZ
	TECNICAS MOLECULARES EN MEJORA GENETICA ANIMAL (Programa en inglés)	5-16 Mar. 01	León	IAMZ/Univ. León
	PROGRAMAS DE MEJORA GENETICA DE PECES PARA ACUICULTURA	2-6 Abr. 01	Zaragoza	IAMZ/FAO
	OPTIMIZACION DEL USO DE RECURSOS FORRAJEROS LOCALES CONVENCIONALES Y NO CONVENCIONALES EN AREAS MEDITERRANEAS ARIDAS Y SEMIARIDAS (Programa en inglés)	12-23 Mayo 01	El Cairo	IAMZ/DRC
	ACUICULTURA MEDITERRANEA: CULTIVO EN MAR ABIERTO	28 Mayo/1 Jun. 01	Zaragoza	IAMZ/FAO
	*PRODUCCION ANIMAL	1 Oct. 01/7 Jun. 02	Zaragoza	IAMZ
	MEJORA DE LA PRODUCCION DEL DROMEDARIO	18 Feb./1 Mar. 02	Rabat	IAV Hassan II/IAMZ
	PRODUCCION DE MOLUSCOS EN EL MEDITERRANEO	18-22 Mar. 02	Marruecos	IAMZ/INRH/FAO

(*) **Cursos de Especialización Postuniversitaria** del correspondiente Programa Master of Science. Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 00-01; 02-03; 04-05
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 01-02; 03-04; 05-06
- PRODUCCIÓN ANIMAL: 01-02; 03-04; 05-06
- ACUICULTURA: 03-04 (a confirmar)
- ORDENACION RURAL EN FUNCIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 00-01; 02-03; 04-05
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 01-02; 03-04; 05-06

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
MEDIO AMBIENTE	MODELIZACION DE ESTRATEGIAS DE GESTION DE PESQUERIAS EN EL MEDITERRANEO	18-22 Sep. 00	Fuengirola	IAMZ/IEO/FAO-COPEMED
	CAMBIO CLIMATICO: EFECTOS SOBRE LA AGRICULTURA EN LA REGION MEDITERRANEA	25-29 Sep. 00	Zaragoza	IAMZ/RICAMARE
	*ORDENACION RURAL EN FUNCION DEL MEDIO AMBIENTE	2 Oct. 00/8 Jun. 01	Zaragoza	IAMZ
	ECONOMIA DE LOS RECURSOS NATURALES	12-23 Mar. 01	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE GESTION PARA MITIGAR LOS EFECTOS DE LA SEQUIA EN LA REGION MEDITERRANEA: SEGUIMIENTO, ANALISIS DE RIESGOS Y PLANES DE EMERGENCIA. Programa en francés o inglés	21-26 Mayo 01	Rabat	IAMZ/IAV Hassan II
	INCENDIOS FORESTALES: INVESTIGACION DE CAUSAS Y NUEVAS TECNOLOGIAS PARA PREVENCION Y EXTINCION	15-26 Oct. 01	Zaragoza	IAMZ/MMA/FAO
	GESTION Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS PISCICOLAS EN AGUAS CONTINENTALES DE LOS PAISES MEDITERRANEOS	12-16 Nov. 01	Zaragoza	IAMZ
	FUENTES ALTERNATIVAS DE AGUA PARA REGADIO: INFLUENCIA DE LOS FACTORES ECONOMICOS	10-14 Dic. 01	Zaragoza	IAMZ
	LA PREDICCION METEOROLOGICA Y SU APLICACION A LA GESTION AGRICOLA SOSTENIBLE EN LA REGION MEDITERRANEA	19-23 Ene. 02	El Cairo	IAMZ/CLAC-ARC
	MEJORA DE HABITATS PARA LA GESTION DE RECURSOS CINEGETICOS	18-22 Feb. 02	Zaragoza	IAMZ
	RIOS Y RIBERAS DE REGIMEN MEDITERRANEO Y SU GESTION	8-19 Abr. 02	Zaragoza	IAMZ
	GESTION, RESTAURACION Y APLICACIONES DE LOS HUMEDALES	13-24 Mayo 02	Zaragoza	IAMZ
COMERCIALIZACIÓN	GESTION DE LA CALIDAD. NUEVOS CONCEPTOS Y SU APLICACION EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO	16-27 Oct. 00	Zaragoza	IAMZ
	LA LOGISTICA AGROALIMENTARIA MODERNA. ADAPTACION ESTRATEGICA FRENTE A LOS CAMBIOS DEL MERCADO	20-24 Nov. 00	Zaragoza	IAMZ
	LA ORGANIZACION MUNDIAL DEL COMERCIO Y SU IMPACTO EN EL MARKETING INTERNACIONAL AGROALIMENTARIO	5-9 Feb. 01	Zaragoza	IAMZ/OMC
	MARKETING DE FRUTAS Y HORTALIZAS EN FRESCO	7-18 Mayo 01	Zaragoza	IAMZ
	EL COMERCIO ELECTRONICO. IMPACTO Y DESARROLLO FUTURO EN LA COMERCIALIZACION AGROALIMENTARIA	11-15 Jun. 01	Zaragoza	IAMZ
	*MARKETING AGROALIMENTARIO	1 Oct. 01/7 Jun. 02	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 el curso de Olivicultura y Elaiotecnia finaliza el 15 de Abril de 2001. El plazo de inscripción para los cursos de Producción Animal y Marketing Agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2001. 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.

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.

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.

Para mayor información dirigirse a:

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Apartado 202 - 50080 ZARAGAOZA (ESPAÑA)

Teléfono 976 716000 - Fax 976 716001 - e-mail iamz@iamz.chieam.org

Web http://www.iamz.chieam.org

En la página Web se proporciona información sobre los cursos programados y se facilita el formulario de inscripción:

http//www.iamz.ciheam.org