



UNIVERSIDAD
POLITECNICA
DE VALENCIA

MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**NECESIDADES ENERGÉTICAS EN OVEJAS DE RAZA
GUIRRA DETERMINADAS POR DOS MÉTODOS DE
CALORIMETRÍA INDIRECTA**

Tesis de Máster

Valencia, Mayo 2012

Patricia Criscioni Ferreira

Directores:

Carlos Javier Fernández Martínez

María del Carmen López Luján

AGRADECIMIENTOS

A mis tutores Carlos y M^a Carmen que hicieron posible este trabajo, y gracias a ellos fue una grata experiencia.

A mis compañeros del máster, mi familia de aquí, simplemente *gracias!*

Al Director del Master que siempre estuvo ahí acompañando, con paciencia y una sonrisa.

NECESIDADES ENERGÉTICAS EN OVEJAS DE RAZA GUIRRA DETERMINADAS POR DOS MÉTODOS DE CALORIMETRÍA INDIRECTA

ALUMNO : Patricia Criscioni

DIRECTORES: Carlos Javier Fernández Martínez
María del Carmen López Luján

RESUMEN

Con el objetivo de determinar las necesidades energéticas en ovejas de raza Guirra se alimentó a los animales con una dieta con niveles crecientes de cebada en grano, y se utilizaron dos métodos de calorimetría indirecta. Se seleccionaron doce ovejas de dichas razas pertenecientes a la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia de tres años de edad, secas y no gestantes. Los métodos de calorimetría utilizados fueron el de Coeficiente respiratorio (método CR) y el de balance Carbono-Nitrógeno (método C-N). En los resultados obtenidos se observaron valores similares entre ambos métodos; la Energía Retenida en promedio fue de 185,3 kJ/kg PV^{0,75} (método CR) y 192,52 kJ/kg PV^{0,75} (método C-N) y un análisis de correlación entre ambos métodos dio un coeficiente de correlación $r = 0,98$. La Energía Neta para el mantenimiento calculada como la producción de calor en ayunas con el método de CR fue 317,7 kJ/kg PV^{0,75} y la Energía Metabolizable para el mantenimiento estimada por regresión fue de 352 kJ/kg PV^{0,75}.

ENERGY REQUIREMENTS NEEDS IN GUIRRA SHEEP BY TWO INDIRECT CALORIMETRY METHODS

SUMMARY

In order to determine the energy requirements on Guirra sheep, animals were fed with a diet containing increasing levels of barley grain, and two methods of indirect calorimetry were used. Twelve sheep were selected, sheep that belong to the UPV's experimental farm, of three years old, dry and not pregnant. The calorimetry methods used were the Respiratory coefficient (CR method) and the Carbon-Nitrogen balance (CN method). Once the experiment was finished proportionality between both methods was observed as results were similar; the Retained Energy was in average 185.3 kJ/kg BW^{0.75} (CR method) and 192.52 kJ/kg BW^{0.75} (CN method), the analysis on the correlation between both methods was $r = 0.98$. The Net Energy for the maintenance, calculated as fasting heat production with the CR method was 317.7 kJ/kg BW^{0.75} and the metabolizable energy for the maintenance estimated by regression was 352 kJ/kg BW^{0.75}.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
ANIMALES Y DIETAS.....	7
JAULAS.....	9
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	10
Adaptación y Digestibilidad.....	10
Medidas Respirométricas.....	11
DETERMINACIONES.....	13
ANÁLISIS DE DATOS.....	15
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
4. CONCLUSIONES.....	23
5. BIBLIOGRAFÍA.....	24

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición bromatológica de las dietas.....	8
Tabla 2. Peso vivo de las ovejas (kg) y coeficientes de digestibilidad aparente de las dietas (%).....	16
Tabla 3. Balance energético por el método de Coeficiente respiratorio (Método CR).....	17
Tabla 4. Balance Carbono-Nitrógeno (Método C-N).....	21
Tabla 5. Energía retenida obtenida por los métodos de Coeficiente respiratorio y Carbono-Nitrógeno (kJ/kg PV ^{0,75}).....	22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de las dietas experimentales en las jaulas donde se alojan los animales.....	8
Figura 2. Vista trasera de las jaulas metabólicas individuales.....	9
Figura 3. a) Bebedero; b) Comedero; c) Bandeja separadora de heces y cubo de recolección de orina; d) Vista delantera de las jaulas metabólicas con comedero.....	10
Figura 4. Esquema del diseño del equipo de respirometría portátil para pequeños rumiantes.....	12
Figura 5. a) Sistema de sujeción del animal; b) Máscara de respirometría c y d) Equipo de respirometría.....	13

LISTA DE ABREVIATURAS

PC: Producción de calor

CO₂: Dióxido de carbono

CH₄: Metano

MS: Materia Seca

MO: Materia Orgánica

PB: Proteína Bruta

EE: Extracto Etéreo

EB: Energía Bruta

E.D: Energía Digestible

E.M: Energía Metabólica

FND: Fibra neutro detergente

FAD: Fibra ácido detergente

LAD: Lignina ácido detergente

NADP: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

kJ/kg PV^{0,75}: Kilojulio por kilogramo de peso metabólico

g/kg MS: Gramos por kilogramo de materia seca

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación en un sistema intensivo de producción ovina española puede llegar a representar alrededor del 50 al 80% de los gastos totales de la explotación (Daza, 2002). Un abaratamiento de dichos costes implica buscar ingredientes a buen precio en el mercado sin desequilibrar las necesidades en nutrientes de los animales.

Conocer las necesidades nutricionales (energéticas – proteicas) de las razas es clave para poder elaborar una dieta adecuada. La mayor parte de los sistemas de alimentación actuales tienen secciones específicas para estimar la ingestión de alimento, necesidades de nutrientes y valor nutritivo de los alimentos. Todos estos aspectos están íntimamente interconectados, de hecho, la estimación de las necesidades del animal debe tener en cuenta la disponibilidad de nutrientes de los alimentos, cuya predicción vuelve a requerir un preciso conocimiento de las necesidades del animal.

En las últimas décadas se ha avanzado en el conocimiento sobre la nutrición y el metabolismo del ganado en general, pero las necesidades energéticas de los pequeños rumiantes en España es prácticamente inexistente. Varios sistemas de alimentación para el ganado ovino se han publicado a nivel internacional: ARC (1980), AFRC (1993), CSIRO (2007), INRA (2007) y NRC (2007). Dichos sistemas se utilizan en España pero no incorporan a las razas españolas, por lo que es clave profundizar en dichos conocimientos en nuestras razas y sistemas productivos.

La mayor parte de las recomendaciones sobre necesidades nutricionales de las razas ovinas españolas (principalmente energía y proteína) que se utilizan a nivel práctico en España corresponden al INRA y al NRC. En la actualidad, la Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal en España (FEDNA) ha tratado de adaptar estos sistemas a las condiciones españolas, ya que las razas y los sistemas productivos españoles no coinciden con los de otros países como Francia o Estados Unidos (para más detalle consultar FEDNA 2008; 2009). Aun así, FEDNA 2008 y 2009 insiste en la escasa información.

En la Comunidad Valenciana se localiza una raza ovina que es la única raza de ovejas autóctona de esta región. Esta raza es la llamada raza Guirra, o también conocida como Sudat o Roja Levantina, con poco más de 5.000 ejemplares la oveja Guirra se ha convertido en una especie en peligro de extinción (ANGUIRRA, 2011). Su característica más destacable, entre las diferentes razas peninsulares de ganado ovino, es la coloración de su capa, rojo oscuro en las regiones corporales desprovistas de lana (cabeza, borde inferior del cuello, vientre y extremidades). Esta raza tiene una doble capacidad para producir leche y corderos, pese a ello se encuentra en peligro de extinción y está considerada dentro de las razas de protección oficial según el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España.

Para poder medir las necesidades energéticas y el metabolismo energético de los animales necesitamos de la calorimetría que mide la producción de calor (PC). Por medio de la calorimetría podemos estimar el coste energético de la vida. Todos los procesos vitales como el mantenimiento, crecimiento, producción de leche, etc. necesitan energía, y la principal fuente de esa energía es el alimento.

La calorimetría se basa en el principio de que el calor de producción es el resultado de la oxidación completa de los compuestos orgánicos. Se asume, que si los compuestos orgánicos se oxidan en su totalidad, el calor de producción se puede calcular fácilmente a partir del oxígeno (O₂) consumido y de la cantidad de dióxido de carbono (CO₂) producida. Una oxidación incompleta de la proteína ingerida por el animal va a generar la formación de compuestos nitrogenados que se excretan. Además, en el caso de los rumiantes, la fermentación anaeróbica en el tracto gastro-intestinal va a ser la responsable de la formación de gases como son el CO₂ y el metano (CH₄). Estos términos, relacionados con “pérdidas energéticas”, serán tenidos en cuenta al realizar un balance energético y calorimétrico.

La mayor parte de los estudios de PC se realizan por métodos indirectos en los cuales el calor no se mide directamente. Uno de estos métodos mide el O₂ consumido, el CO₂ y CH₄ producidos y la excreción de nitrógeno en la orina (Brouwer, 1965). Este método se denomina método de Coeficiente respiratorio (CR = litros CO₂/litros O₂). Otro método indirecto calcula la PC como la diferencia entre la energía metabolizable (EM) y la energía retenida (ER) en el cuerpo.

La ER se puede calcular a partir de los balances de carbono (C) y nitrógeno (N), asumiendo que toda la energía se retiene en forma de grasa o proteína. De ahí que este último método se llame de Carbono-Nitrógeno (C-N).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue determinar las necesidades energéticas en ovejas de raza Guirra alimentadas con tres dietas a base de alfalfa y niveles crecientes de cebada grano, utilizando dos métodos de calorimetría indirecta; el método de CR y el método C-N.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

➤ ANIMALES Y DIETAS

El trabajo fue realizado en la granja experimental del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), que al momento del experimento contaba con alrededor de 60 ovejas (razas Guirra y Manchega). Para esta experiencia fueron seleccionadas 12 ovejas de raza Guirra de aproximadamente 3 años de edad, secas y no gestantes.

Previo al experimento las ovejas fueron pesadas en una báscula para pequeños rumiantes con el objeto de seleccionar animales de peso vivo similar. Se formaron tres grupos de animales con cuatro ovejas cada uno. Todos los animales utilizados en el estudio fueron debidamente identificados y mantenidos en las mismas condiciones ambientales y de manejo.

En la Tabla 1 se muestran los ingredientes y la composición química de las dietas experimentales. Se formularon tres dietas a base de heno de alfalfa y cebada en grano, en las cuales se incrementó gradualmente la cantidad de cebada; 150g de cebada, 300g y 450g (C₁₅₀, C₃₀₀, C₄₅₀, respectivamente).

También se puso a disposición de los animales un bloque de sal-vitamínico-mineral, que se administró en el propio comedero de la jaula, y agua limpia y fresca a voluntad.

Tabla 1. Composición bromatológica de las dietas.

INGREDIENTES (g/kg MS)	C₁₅₀	C₃₀₀	C₄₅₀
Heno de alfalfa	931,4	871,7	819,1
Cebada 6 carreras	68,6	128,3	180,9
COMPOSICIÓN QUÍMICA (% MS)			
MS	90,77	89,79	90,58
Cenizas	9,36	8,92	8,54
MO	90,64	91,08	91,46
PB	14,84	14,59	14,38
EE	1,38	1,49	1,58
FND	49,14	47,10	45,31
FAD	32,97	31,05	29,38
LAD	6,11	5,71	5,36
EB (kJ/kg MS)	18,57	18,57	18,58
Almidón	5,42	8,49	11,19

MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente; EB: energía bruta.

Las ovejas se alojaron en jaulas metabólicas individuales durante el experimento, y en la Figura 1 se observa la distribución alternada de las tres dietas experimentales en cada una de las jaulas metabólicas.

Jaulas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Dietas	C₁₅₀	C₃₀₀	C₄₅₀									

Figura 1. Distribución de las dietas experimentales en las jaulas donde se alojan los animales.

➤ JAULAS

Las **jaulas metabólicas individuales** en las que estuvieron alojados los animales durante todo el experimento estaban provistas de un dispositivo para la recogida y separación de heces y orina, además disponían de un **comedero** desmontable, para facilitar el manejo y limpieza, localizado en la parte exterior de la jaula para evitar que la comida se mezclase con el excremento y también de un **bebedero** localizado en el interior de la jaula (Figura 2).

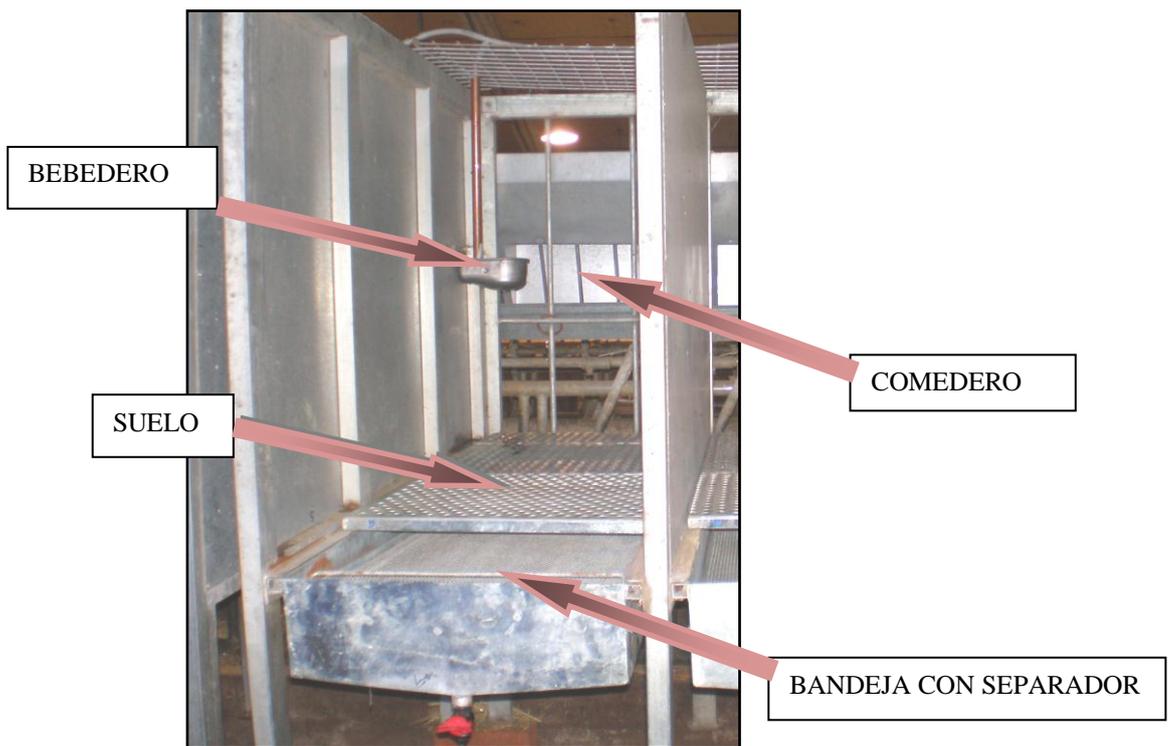


Figura 2. Vista trasera de las jaulas metabólicas individuales.

El **suelo de las jaulas** estaba constituido por un enrejado metálico, una fina rejilla donde se retienen las heces y permite el paso de orina a una plancha metálica en forma de V, cuya ligera pendiente facilita la recogida de la orina en cubos numerados e identificados para cada animal. En la Figura 3 se muestran en detalle cada uno de los componentes de las jaulas.

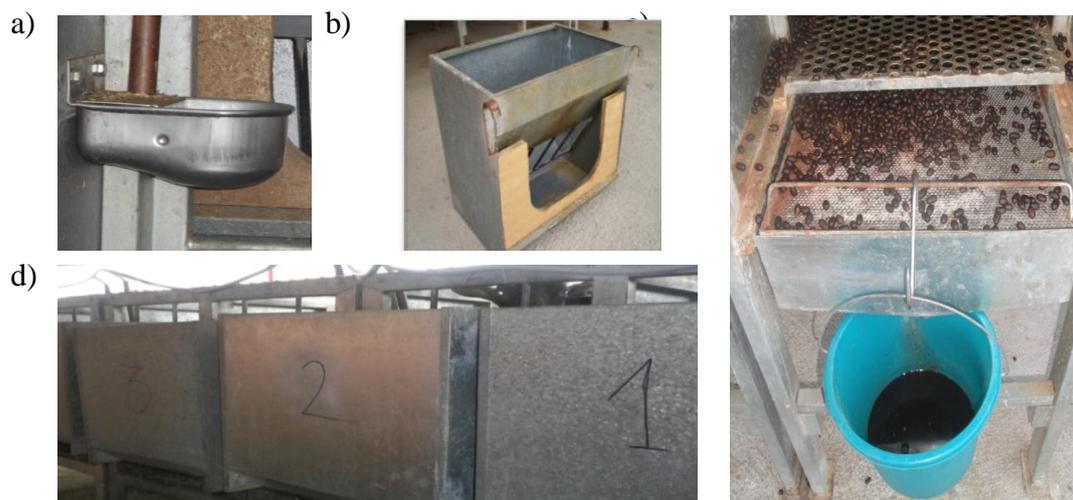


Figura 3. a) Bebedero; b) Comedero; c) Bandeja separadora de heces y cubo de recolección de orina; d) Vista delantera de las jaulas metabólicas con comedero.

➤ DISEÑO EXPERIMENTAL

Después del pesaje de los animales éstos fueron alojados al azar en las jaulas metabólicas durante 25 días, dividiéndose este período en varias fases:

Adaptación: 12 días

Digestibilidad: 5 días

Descanso: 2 días

Medidas Respirométricas: 3 días

Ayuno: 3 días

⇒ Adaptación y Digestibilidad

La fase de adaptación constó de los 12 días anteriores al comienzo de la fase de digestibilidad, durante este periodo los animales estuvieron alojados en las jaulas metabólicas y estuvieron alimentados con las dietas experimentales. El objetivo de esta fase fue que las ovejas se adaptasen al alojamiento y a la dieta experimental. El total de la ración fue ofrecida a los animales en dos tomas diarias a las 08:00 y a las 14:00 h.

En el transcurso de la fase experimental de digestibilidad se controló la ingestión de alimento diariamente mediante la recogida y pesaje del rehusado del alimento que se había ofrecido el día anterior.

Las heces y la orina producidas también se recogieron y midieron todos los días, antes del suministro de la ración de la mañana. La orina se recogió en un recipiente que contenía 100 ml de una solución de ácido sulfúrico al 10%, con el fin de evitar las pérdidas de nitrógeno amoniacal por volatilización. Tanto del alimento rehusado, como de las heces y la orina se tomaron muestras representativas de cada oveja para su posterior análisis. En el caso de las heces y la orina, las muestras recogidas fueron congeladas a -20 °C hasta que fueron analizadas en el laboratorio.

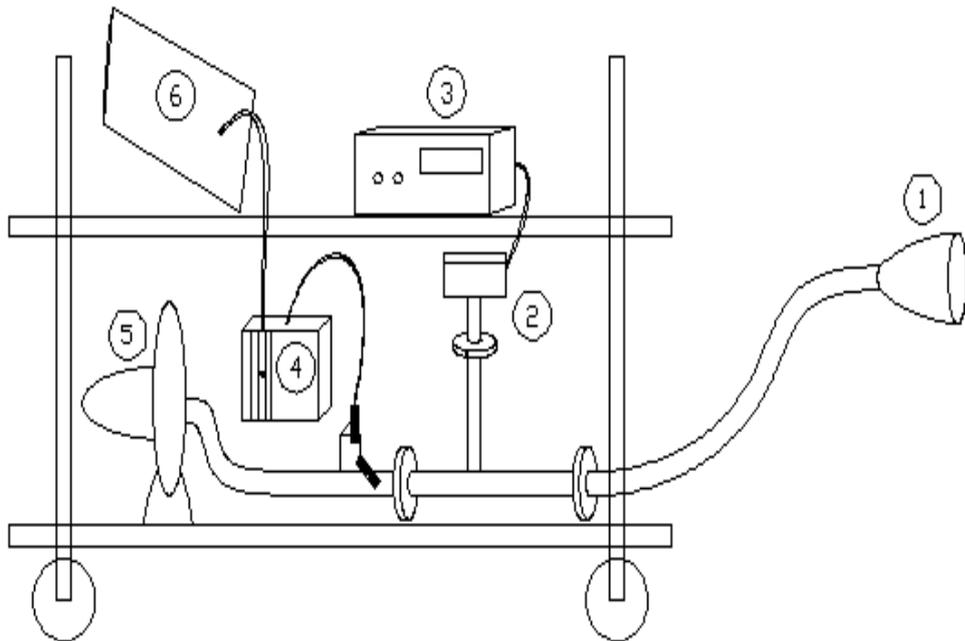
La composición química de las raciones y las heces se analizó siguiendo los métodos oficiales de análisis de AOAC (2000) para determinar materia seca (MS), cenizas, materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y extracto etéreo (EE). La fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina ácido detergente (LAD) se determinaron según Van Soest *et al.* (1991) utilizando la técnica de las bolsas de filtro de ANKOM. La concentración de energía se estableció utilizando una bomba calorimétrica adiabática (Gallenkamp Autobomb; Loughborough, UK). El contenido de almidón se determinó de acuerdo a Batey (1982) por un procedimiento enzimático de dos pasos con solubilización e hidrólisis de maltodextrinas con amilasa termoestable seguido por hidrólisis completa con amiloglucosidasa (ambas enzimas de Sigma-Aldrich, Steinheim, Alemania), y la glucosa resultante medida con hexokinasa/glucosa-6 fosfato deshidrogenasa/sistema NADP. El análisis de C se realizó por el método de Dumas mediante un analizador LECO (TruSpec CN; Leco Corporation, St. Joseph, MI, USA).

Medidas Respirométricas

Tras concluir los 5 días de digestibilidad se dejaron pasar 2 días de descanso, pero los animales continuaban comiendo su dieta experimental, y durante los 3 días siguientes se realizaron las medidas respirométricas a todos los animales.

Para realizar estas medidas se ha diseñado un equipo portátil de respirometría para pequeños rumiantes en la Unidad de Alimentación Animal del Dpto. de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia. Dicho dispositivo consiste en una máscara que se le coloca al animal, unida a un caudalímetro y éste a su vez a un ventilador centrífugo (Figura 4).

Se trata de un sistema de circuito abierto que trabaja por calorimetría indirecta. Se utilizó para medir la producción de CO₂ y CH₄, y el consumo de O₂ de los animales, y de forma indirecta también se determinó la producción de calor (PC).



1: Máscara; 2: Caudalímetro; 3: Totalizador; 4: Bomba; 5: Ventilador centrífugo; 6: Bolsa de recogida del aire.

Figura 4. Esquema del diseño del equipo de respirometría portátil para pequeños rumiantes.

Las mediciones respirométricas se realizaron de la siguiente forma:

La primera medición a cada animal se le realizó a primera hora de la mañana, antes de ofrecerle la parte de la ración correspondiente a la mañana. La máscara se le colocó durante diez minutos y tras retirársela se le suministró el alimento. A continuación se realizaron 3 mediciones más a cada animal separadas entre sí un periodo de tiempo de 1 hora. Previo a cada una de las mediciones de cada animal se realizó una medición donde se recogió aire atmosférico, y estos datos de aire atmosférico se utilizaron para corregir los obtenidos de los animales.

Tras colocar la máscara en la cabeza del animal se siguió la metodología propuesta por Brosh *et al.* (2002). Este aire quedaba contenido en una bolsa-balón Douglas (PanLab S.L. Harvard Apparatus) con una capacidad de 15 litros que se cerraba herméticamente y se llevaba al laboratorio, donde se conectaba a un analizador de gases (Easyflow 3020, ABB S.A.) con cubetas de autocalibrado incorporadas para medir concentraciones de O₂, CO₂ y CH₄. El caudal de entrada a la bolsa era de 90 lts /hora. En la Figura 5 se observa el sistema de sujeción del animal así como la máscara y el equipo de respirometría.

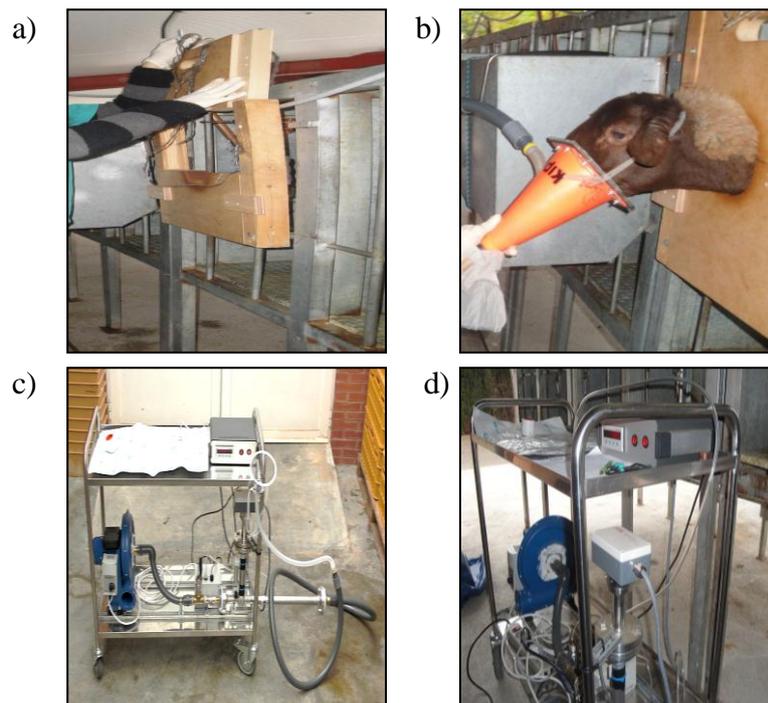


Figura 5. a) Sistema de sujeción del animal; b) Máscara de respirometría; c y d) Equipo de respirometría.

Una vez terminada la digestibilidad y las medidas calorimétricas, se dejaron en ayunas durante 3 días a 3 ovejas seleccionadas al azar y se procedió a realizar las determinaciones de producción de calor en ayunas con la misma metodología descrita anteriormente (también se realizaron 4 medidas por animal y día).

➤ **DETERMINACIONES.**

Durante la prueba de digestibilidad se realizaron dos balances, uno energético y otro proteico, de los cuales se obtuvo la energía y el nitrógeno que retuvieron los animales.

Para realizar el balance energético se determinó la energía retenida (ER) descontando a la energía bruta ingerida (EBi) las pérdidas producidas en heces (E_{heces}), orina (E_{orina}), metano (E_{CH_4}) y PC, según la siguiente expresión:

$$ER = EBi - E_{heces} - E_{orina} - E_{CH_4} - PC$$

La PC se determinó por calorimetría indirecta e intercambio gaseoso (método CR), como ya se ha comentado en el apartado de 'Medidas respirométricas', y para su cálculo se utilizó la ecuación de Brouwer (1965):

$$PC \text{ (kJ/d)} = 16,18 O_2 \text{ (l/d)} + 5,02 CO_2 \text{ (l/d)} - 2,17 CH_4 \text{ (l/d)} - 5,99 N_{orina} \text{ (g/d)}$$

También se calculó el balance de nitrógeno y de carbono de los animales (método C-N). El nitrógeno retenido (BN) en el organismo de los animales se determinó restando las pérdidas nitrogenadas en heces (N_{heces}) y orina (N_{orina}) al nitrógeno ingerido (N_i), según la siguiente expresión:

$$BN = N_i - N_{heces} - N_{orina}$$

El carbono retenido (BC) en el organismo de los animales se determinó restando las pérdidas de carbono en heces (C_{heces}), orina (C_{orina}), metano (C_{CH_4}) y dióxido de carbono (C_{CO_2}), al carbono ingerido (C_i), según la siguiente expresión:

$$BC = C_i - C_{heces} - C_{orina} - C_{CH_4} - C_{CO_2}$$

La ER por el método de balance C-N se determina con la expresión siguiente, según recomendaciones de Christensen *et al.* (1988):

$$ER = 51,8 \times BC - 19,4 \times BN$$

Y finalmente

$$PC = EM_{ingerida} (EM_{ing}) - ER.$$

Como unidad energética en este trabajo utilizaremos el Joule (J), y la conversión a Calorías es: 1cal = 4,18J.

➤ ANÁLISIS DE DATOS

El diseño experimental fue completamente al azar y se realizó un análisis de varianza con la dieta como efecto fijo. La comparación de medias se efectuó con el test de Tukey y el software empleado fue el JMP Pro v9. También se realizó un análisis de correlación entre la ER calculada con los métodos de CR y de C-N.

Por último, se hicieron 2 regresiones lineales; una entre la ER y la EM_{ing} , y otra entre la PC y la EM_{ing} .

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los pesos vivos medios de las ovejas de cada grupo así como los coeficientes de digestibilidad aparente estudiados para las tres dietas experimentales. Solamente se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) entre las dietas para los coeficientes de digestibilidad de la EB. Los animales alimentados con C_{450} presentaron un mayor coeficiente de digestibilidad de energía bruta ($P < 0,05$) que los alimentados con C_{150} . La dieta C_{300} no presentó diferencias significativas respecto a las dietas C_{150} y C_{450} ; estos resultados pueden deberse a la composición de las dietas, al aumentar la oferta de cebada en la dieta aumenta la digestibilidad de la energía.

Tabla 2. Peso vivo de las ovejas (kg) y coeficientes de digestibilidad aparente de las dietas (%).

%	C_{150} n=4	C_{300} n=4	C_{450} n=4	EEM	P-valor
PV (kg)	58,25	58,33	58,25	0,870	0,9992
MS	57,61	60,60	61,08	1,007	0,5222
MO	59,73	62,25	62,86	0,949	0,5752
PB	60,50	61,39	61,57	1,236	0,9634
EE	38,89	31,22	43,10	2,663	0,1382
FND	50,46	49,57	48,17	1,146	0,8228
FAD	48,57	47,11	46,11	1,262	0,8449
EB	53,94 ^b	59,70 ^{ab}	63,69 ^a	1,357	0,0363

PV: peso vivo; MS: materia seca; MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; EB: energía bruta; EEM: error estándar medio; letras distintas muestran diferencias significativas ($P < 0,05$).

Para el resto de parámetros químicos (MS, MO, PB, EE, FDN y FAD) no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los coeficientes de digestibilidad aparente entre las tres dietas experimentales, aunque los valores tendieron a aumentar al incrementar la inclusión de concentrado en la dieta (C_{150} , C_{300} y C_{450} , respectivamente).

Raimundo (2010) observó tanto en ovejas de raza Guirra como Manchega menores coeficientes de digestibilidad de la energía bruta (53,12 y 51,26%, respectivamente), pudiendo deberse estas diferencias a que las ovejas de dicho estudio se encontraban alimentadas por debajo de las necesidades de mantenimiento y la dieta consistía básicamente en paja de cebada con un aporte de 200g diarios de gluten feed.

Aguilera *et al.* (1986) con ovejas Segureñas en mantenimiento obtuvieron unos coeficientes de digestibilidad de la energía en torno al 66%, en este caso los coeficientes de digestibilidad fueron mayores a los encontrados en este estudio, debido al tipo de dieta (dietas basadas en alfalfa, cebada, torta de girasol y orujo de aceituna) y a la presentación del alimento (alfalfa granulada).

La Tabla 3 nos muestra el balance energético obtenido por calorimetría indirecta mediante el método de CR, es decir, utilizamos el intercambio gaseoso de la respiración para calcular la producción de calor.

Tabla 3. Balance energético por el método de Coeficiente respiratorio (Método CR).

KJ/kg PV^{0,75}	C₁₅₀	C₃₀₀	C₄₅₀	EEM	P-valor
MS_{ing} (kg/d)	1,568	1,684	1,823	0,055	0,3178
MS_{ing} (g/kg PV^{0,75})	74,28	79,74	86,47	2,203	0,1767
EB_{ing}	1247,94 ^b	1275,78 ^b	1513,24 ^a	44,838	0,0270
E_{heces}	789,61 ^a	613,13 ^b	654,87 ^{ab}	28,574	0,0529
ED_{ing}	458,33 ^c	662,65 ^b	858,36 ^a	44,807	0,0002
E_{orina}	33,28	35,64	31,51	1,854	0,6729
E_{CH4}	48,19	50,60	37,25	5,782	0,6597
EM_{ing}	376,86 ^c	576,41 ^b	789,60 ^a	46,767	0,0002
PC	351,71 ^b	383,54 ^b	451,64 ^a	12,499	0,0010
ER	25,15 ^c	192,88 ^b	337,96 ^a	37,801	0,0037
CR	0,84 ^c	0,98 ^b	1,02 ^a	0,020	0,0001

MS_{ing}: materia seca ingerida; EB_{ing}: energía bruta ingerida; E_{heces}: energía de las heces; ED_{ing}: energía digestible ingerida; E_{orina}: energía de la orina; E_{CH4}: energía del metano; EM_{ing}: energía metabolizable ingerida; PC: producción de calor; ER: energía retenida; CR: coeficiente respiratorio; EEM: error estándar medio; letras distintas en la misma línea muestran diferencias significativas (P<0,05).

En esta tabla observamos que la MS_{ing} aumenta cuando la cantidad de concentrado en la dieta se incrementa, aunque estas diferencias no fueron significativas estadísticamente ($P > 0,05$).

En cuanto a la EB_{ing} , ésta fue similar entre los grupos C_{150} y C_{300} (1.261,9 kJ/kg $PV^{0,75}$, como promedio) y estadísticamente significativa ($P < 0,05$) entre dichas dietas y C_{450} (1.513,2 kJ/kg $PV^{0,75}$).

La ED_{ing} fue significativamente superior ($P < 0,05$) para la dieta C_{450} , seguida de C_{300} y a continuación de C_{150} ; al incrementar la cantidad de cebada ofrecida con las dietas los animales aumentaban su ingestión de ED. Restándole a la ED_{ing} la energía de la orina y la energía del metano (que no presentan diferencias estadísticamente significativas entre las dietas) obtenemos la EM_{ing} .

Esta última sigue la misma tendencia que la ED_{ing} , fue significativamente mayor ($P < 0,05$) para C_{450} , seguido de C_{300} y C_{150} ; los animales que consumieron la dieta con más cebada (C_{450}) presentaron mayor ingestión de EM_{ing} que los que consumieron la dieta C_{300} y éstos a su vez más que los que consumieron la menor cantidad de cereal (C_{150}).

Raimundo (2010) obtuvo valores de EM_{ing} de 255,6 kJ/kg $PV^{0,75}$ en ovejas Guirras y 295,8 kJ/kg $PV^{0,75}$ en ovejas Manchegas, estos valores son menores a los encontrados en este trabajo ya que los animales estaban alimentados por debajo de las necesidades de mantenimiento.

Nuestro valor de ingestión de EM obtenido con la dieta C_{150} (376,9 kJ/kg $PV^{0,75}$) fue superior al encontrado por Raimundo (2010) y menor al valor obtenido por Aguilera *et al.* (1986) en ovejas Segureñas (447,3 kJ/kg $PV^{0,75}$). Por otro lado, observamos que Aguilera *et al.* (1986) estima las necesidades de EM para el mantenimiento en 374,0 kJ/kg $PV^{0,75}$, valor muy similar al obtenido con la dieta C_{150} .

Nuestros valores de EM_{ing} van de 377 a 790 kJ/kg $PV^{0,75}$ y otros investigadores como El-Meccawi *et al.* (2007) obtuvieron valores de EM_{ing} con rangos que van desde los 78,1 a 624,1 kJ/kg $PV^{0,75}$ en ovejas de raza Awassi alimentadas con *Acacia saligna* y *Medicago sativa* respectivamente, pudiendo explicarse estos resultados a que se trataba de ovejas adaptadas a clima desértico (genotipo y latitud) y por el tipo de dieta (adaptación al tipo de dieta).

En cuanto a la producción de calor (PC) obtenida por las ovejas alimentadas con las 3 dietas, no se observaron diferencias significativas entre C₁₅₀ y C₃₀₀, con valor promedio de 367,6 kJ/kg PV^{0,75}; pero sí que fue significativamente superior (P<0,05) entre estas dietas y la dieta C₄₅₀ (451,6 kJ/kg PV^{0,75}) pudiendo deberse esto a la mayor actividad alimentaria, que va desde la aprehensión del alimento, la fermentación ruminal y hasta la digestión.

Cuando estudiamos los valores de PC en ayunas, Raimundo (2010) encontró para ovejas de raza Guirra una producción de calor en ayunas de 309,6 kJ/kg PV^{0,75} y para ovejas de raza Manchega de 268,3 kJ/kg PV^{0,75} (el valor medio para ambas razas sería de 288,9 kJ/kg PV^{0,75}).

Estos valores son inferiores a los obtenidos en ayunas en este trabajo (317,7 kJ/kg PV^{0,75}), siendo esto debido a que la PC en ayunas es función del estado de alimentación en el que se encontraban los animales previo al ayuno (Agnew y Yan, 2005). En estos trabajos el ayuno fue de 3 días, pero en el trabajo de Raimundo (2010), aunque los animales también habían ayunado durante 3 días, las ovejas habían estado alimentadas por debajo del nivel de mantenimiento y en el presente trabajo por encima de las necesidades de mantenimiento.

Aguilera *et al.* (1986) desarrollaron un experimento con ovinos castrados de raza Segureña para determinar las necesidades de mantenimiento, para ello alimentaron a las ovejas a un nivel próximo al mantenimiento (balance energético cero) y después mantuvieron los animales en ayunas. Haciendo una regresión entre la energía retenida y la EM_{ing} obtuvieron una eficiencia en la utilización de la EM para el mantenimiento (EMm) de 72,4%. La PC en ayunas fue de 271,5 kJ/kg PV^{0,75} y la PC próxima al mantenimiento fue de 395,0 kJ/kg PV^{0,75}. Aunque con diferencias debido a las dietas, los niveles de alimentación y la metodología, en nuestro estudio se observa la misma tendencia, una PC en ayunas de 317,7 y una PC próxima al mantenimiento de 351,7 kJ/kg PV^{0,75}.

El-Meccawi *et al.* (2007) hallaron valores de PC de 321,0 y 445,8 kJ/kg PV^{0,75} para los animales machos de más de un año de edad alimentados *ad libitum* con *A. salina* y *M. sativa*, respectivamente. Las mediciones de PC en este trabajo se midieron dos veces al día (por la mañana y por la tarde).

Son muchos factores los que influyen en la PC. Brosh *et al.* (1986) mencionan que el tipo de dieta afecta a la PC así como el genotipo y la latitud, además la diferencia también se puede explicar por la cantidad de materia seca ingerida.

Con respecto a la ER, calculada por diferencia entre la EM_{ing} y la PC, ésta fue incrementándose significativamente ($P < 0,05$) al ir aumentando el contenido de granos de cebada en las dietas (C_{150} , C_{300} y C_{450} , respectivamente). Pese a las diferencias entre las dietas, el balance energético fue positivo para todos los tratamientos, lo que dificultaría a la hora de estimar las necesidades en EM para el mantenimiento en donde necesitaríamos un balance energético cero.

Si hacemos una regresión lineal entre la ER y la EM_{ing} obtenemos la siguiente expresión:

$$ER \text{ (kJ/kg PV}^{0,75}\text{)} = -288,9 \pm 45,9 + 0,82 \pm 0,07 \times EM_{ing} \quad (R^2 = 0,93; \text{RMSE} = 36,56)$$

Siendo RMSE la raíz cuadrada del error estándar de la media. De donde podemos estimar la EMm cuando la $ER=0$; $EMm = 352 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$, siendo el valor similar al obtenido por Aguilera *et al.* (1986) con machos castrados de raza Segureña ($EMm = 374 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$).

Si ahora hacemos una regresión lineal entre la PC y la EM_{ing} obtendremos la recta siguiente:

$$PC \text{ (kJ/kg PV}^{0,75}\text{)} = 271,2 \pm 34,2 + 0,21 \pm 0,06 \times EM_{ing} \quad (R^2 = 0,61; \text{RMSE} = 27,22)$$

Cuando la ingestión de EM = 0 podremos estimar la PC en ayunas; $PC_{ayunas} = 271 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$, siendo el valor similar al obtenido por Aguilera *et al.* (1986) con machos castrados de raza Segureña alimentados próximos al mantenimiento ($PC_{ayunas} = 272 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$).

Recordamos que los valores observados en nuestro experimento, con ovejas secas no gestantes de raza Guirra, para la PC en ayunas fue superior ($318 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$) al estimado por regresión, debido a que las dietas se ofrecieron previamente al ayuno por encima del mantenimiento.

Como nuestras dietas están suministradas por encima del mantenimiento, la eficacia de utilización de la EM para el mantenimiento fue elevada (80% aproximadamente).

En el trabajo de Cannas *et al.* (2004) se hace una revisión de la Km (eficacia de utilización de la energía metabolizable para mantenimiento) propuesta por los diferentes sistemas de alimentación, y dichos valores se sitúan entre el 56 y el 76%. Teóricamente, la eficacia con la que la energía de los productos finales de la digestión en el rumiante se utilizan para el mantenimiento está próxima al 77%.

Además, Km tiende a aumentar al hacerlo la metabolicidad (EM/EB) de la ración (ARC, 1980). Si estimamos la Km a partir de la PC ayunas y EMM obtenida por regresión, obtendremos una Km de 77% ($271/352 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$).

Tabla 4. Balance Carbono-Nitrógeno (Método C-N).

g/Kg PV^{0,75}	C₁₅₀	C₃₀₀	C₄₅₀	EEM	P-valor
N_{ing}	1,634	1,786	1,980	0,054	0,0806
N_{heces}	1,018 ^a	0,712 ^b	0,810 ^{ab}	0,043	0,0091
N_{orina}	0,638	0,683	0,635	0,037	0,8516
BN	-0,021 ^b	0,391 ^a	0,535 ^a	0,068	0,0038
C_{ing}	29,42 ^b	30,22 ^b	36,32 ^a	1,119	0,0177
C_{heces}	19,467 ^a	14,902 ^b	16,301 ^{ab}	0,710	0,0365
C_{orina}	0,663	0,780	0,628	0,047	0,3796
CCO₂	7,914 ^c	9,743 ^b	11,776 ^a	0,433	0,0001
C_{CH₄}	0,870	0,914	0,786	0,101	0,8869
BC	0,502 ^b	3,872 ^{ab}	6,827 ^a	0,793	0,0079
RP	0,132 ^b	2,443 ^a	3,342 ^a	0,428	0,0038
RG	0,763 ^b	3,513 ^{ab}	6,858 ^a	0,819	0,0179
kJ/kg PV^{0,75}					
ER_{C-N}	26,39 ^b	192,97 ^{ab}	342,26 ^a	39,906	0,0085
PC_{C-N}	350,47 ^b	383,45 ^b	446,34 ^a	13,324	0,0152

N_{ing}: nitrógeno ingerido; N_{heces}: nitrógeno heces; N_{orina}: nitrógeno de orina; BN: balance de nitrógeno; C_{ing}: carbono ingerido; C_{heces}: carbono heces; C_{orina}: carbono de la orina; BC: balance carbono; RP: retenido en proteínas; RG: retenido en grasa; ER: energía retenida; PC: producción de calor; EEM: error estándar medio; letras distintas en la misma línea muestran diferencias significativas (P<0,05).

El balance C-N lo encontramos en la Tabla 4. Este balance lo vamos a utilizar para calcular la energía retenida (ER), y dado que conocemos la EM_{ing} de la Tabla 3 podremos calcular la PC ($PC = EM_{ing} - ER$); esto sería lo que hemos denominado método C-N.

La ingesta de nitrógeno aumenta en los animales al aumentar la cantidad de cebada de las dietas, aunque estas diferencias no fueron significativas estadísticamente.

En cuanto al carbono ingerido, la ingesta fue mayor y significativa entre las dietas C_{450} (36,32 g/kg $PV^{0,75}$) y C_{300} y C_{150} (29,82 g/kg $PV^{0,75}$, como promedio), puesto que entre C_{300} y C_{150} la diferencia no fue estadísticamente significativa, la cantidad de carbono ingerido aumentó al aumentar la cantidad de granos de cebada en la dieta.

En el balance nitrogenado (BN) no se observaron diferencias significativas entre C_{300} y C_{450} pero C_{150} fue significativamente menor a los otros dos ($P < 0,05$) presentando un BN negativo. En cuanto al balance de carbono (BC) se observaron diferencias significativas entre C_{150} y C_{450} , no así entre C_{300} y las demás dietas.

Los balances mencionados (BC y BN) en este método se han utilizado para calcular la ER, cuyos valores en las tres dietas fueron similares a la ER hallada a partir del método de CR, como se puede observar en la Tabla 5.

Conociendo la ER, se pueden calcular los valores de PC. Los valores de PC obtenidos por este método fueron similares a los obtenidos por el método de CR; los valores promedios hallados fueron de 393,4 y 395,6 kJ/kg $PV^{0,75}$ para el método C-N y CR, respectivamente.

Tabla 5. Energía retenida obtenida por los métodos de Coeficiente respiratorio y Carbono-Nitrógeno (kJ/kg $PV^{0,75}$).

Método	C_{150}	C_{300}	C_{450}	Promedio
Coeficiente respiratorio	25,15	192,88	337,96	185,33
Carbono-Nitrógeno	27,19	197,97	352,40	192,52

Como se puede observar en la Tabla 5 los valores de la ER para las tres dietas utilizando los métodos de CR y C-N son proporcionales, un análisis de correlación de ambos métodos dio una $r = 0,98$, lo que indica que se obtienen valores similares con ambos métodos. Otros autores, como Christensen *et al.* (1988) observan las mismas tendencias que las obtenidas en nuestro estudio cuando comparan los 2 métodos; una PC generalmente más elevada para el método del CR (ó ER inferior), que es función de la composición de la dieta y nivel de alimentación y, por lo tanto, de la deposición y síntesis de grasa en el organismo.

CONCLUSIONES

Se observa una concordancia entre los dos métodos utilizados, el método CR y el método C-N. La energía retenida fue en promedio $185,3 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$ para el primero y $192,52 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$ para el segundo.

La energía neta del mantenimiento determinada mediante la producción de calor en ayunas con el método CR fue $317,7 \text{ kJ/ kg PV}^{0,75}$.

La EM para el mantenimiento estimada por regresión fue $352 \text{ kJ/kg PV}^{0,75}$.

BIBLIOGRAFÍA

- AFRC. 1993. Agricultural and Food Research Council. Energy and protein requirements of ruminants. CAB International, Wallingford, UK.
- Aguilera, J.F., Molina, E., Prieto, C.Boza, J. 1986. Estimación de las necesidades energéticas de mantenimiento en ganado ovino de raza Segureña. Arch. Zootec., 35: 89-96.
- Agnew, R.E. y Yan, T. 2005. Calorimetry. In: Dijkstra, J.; Forbes, J.M.; France, J. (Eds.). Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. 2 ed., 736 pp.
- A.N.GUIRRA. 2011. Asociación Nacional de criadores de raza Guirra. Disponible en: <http://www.anguirra.com>. Consultado el 20 de diciembre de 2011.
- AOAC. 2000. Official Methods of Analysis of the AOAC International. 18 th Ed. Association of Official Analytical Chemist. Arlington, USA.
- ARC. 1980. Agricultural Research Council. The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. CAB. London.
- Batey, I.L. 1982. Starch analysis using thermostable alpha-amylases. Starch/Stärke, 34: 125-128.
- Brouwer, E. 1965. Report of sub-committee on constants and factors. In Proceedings of 3rd Euroean Association for Animal Production Symposium on Energy Metabolism. London: Academic Press, 11: 441-443.
- Brosh, A., Shkolnik, A., Choshniak, I. 1986. Metabolic effects of infrequent drinking and low-quality feed on Bedouin goats. Ecology, 67: 1086–1090.
- Brosh, A., Aharoni, Y., Holzer, Z. 2002. Energy expenditure estimation from heart rate: validation by long-term energy balance measurement in cows. Liv. Prod. Sci., 77: 287-299.
- Cannas, A., Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Pell, A.N., Van Soest, P. J. 2004. A mechanistic model for predicting the nutrient requirements and feed biological values for sheep. J. Anim. Sci., 82: 149-169.
- CSIRO. 2007. Nutrients requirements of domesticated ruminants. Melbourne. Australia, 270 pp.
- Christensen, K., Chwalibuc, A., Henckel, S., Thorbek, G. 1988. Heat production in growing pigs calculated according to the Rq and Cn methods. Comp. Biochem. Physiol., 91A: 463-468.

- Daza, A. 2002. Mejora de la productividad y planificación de explotaciones ovinas. Ed. Agrícola Española, 232 pp.
- El-Meccawi S., Kam M, Brosh, A., Degen A.A. 2007. Heat production and energy balance of sheep and goats fed sole diets of Acacia saligna and Medicago sativa. Small Rum. Res., 75: 199-203.
- FEDNA. 2008. Necesidades nutricionales para rumiantes de cebo. A. Ferret. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. España. 54 pp.
- FEDNA. 2009. Necesidades nutricionales para rumiantes de leche. Calsamiglia, S., Bach, A., de Blas, C., Fernández, C., García-Rebollar, P. Ed. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid. España. 89 pp.
- INRA. 2007. Institute National de la Recherche Agronomique. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed. Quae France. France.
- NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants; sheep, goats, cervids and new world camelids. The National Academies Press, USA. 362 pp.
- Raimundo, A. 2010. Determinación de las necesidades de mantenimiento en dos razas de ovejas autóctonas españolas; manchega y guirra. Tesis de máster. Universidad Politécnica de Valencia. 26 pp.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci., 74: 3583-3597.