

**Efecto del contenido en lisina, metionina y
treonina del pienso sobre el nivel de
nitrógeno ureico plasmático como indicador
de desequilibrio aminoacídico en conejos
de engorde**

TESINA FIN DE MASTER



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Alejandro Tomás Esteban
Director: Dr. Juan José Pascual Amorós

Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de
València, Camino de Vera, 46022 Valencia, España

Efecto del contenido en lisina, metionina y treonina del pienso sobre el nivel de nitrógeno ureico plasmático como indicador de desequilibrio aminoacídico en conejos de engorde

Alejandro Tomás Esteban

Director: Dr. Juan José Pascual Amorós

Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera, 46022
Valencia, España

RESUMEN

En la actualidad, los piensos de conejos de engorde han visto reducido su nivel de proteína con el fin de evitar problemas gastrointestinales y de minimizar el impacto medioambiental. Paralelamente, los conejos de líneas seleccionadas por velocidad de crecimiento (VC) pueden no estar mostrando todo su potencial genético, debido posiblemente a una dieta deficitaria en proteína o desequilibrada en aminoácidos. Por ello, en el presente trabajo se ha estudiado, a través de una matriz de 27 piensos, cuales son los niveles óptimos de Lisina (Lys), aminoácidos azufrados (Metionina (Met) + Cistina) y Treonina (Thr), utilizando el nitrógeno ureico plasmático (PUN) como indicador de desequilibrio aminoacídico. Se utilizaron 432 conejos (divididos en dos tandas) pertenecientes a las líneas R y V, seleccionadas por VC y tamaño de camada, respectivamente. Cada pienso fue asignado a una jaula de 8 conejos, en la cual habían animales de ambas líneas genéticas. Los días 47 y 48 de vida los conejos se alimentaron de los piensos experimentales y, el día 48 a las 8.00 a.m. y a las 9.00 p.m, se realizaron extracciones de sangre. La ganancia media diaria (GMD) fue significativamente mayor en la línea R, así como el PUN ($16,43 \pm 0,19$ y $14,56 \pm 0,38$ mg/dL para R y V, respectivamente; $P < 0,0001$), consecuencia de un posible mayor desequilibrio en los animales con gran crecimiento. En cuanto a las diferencias de PUN obtenidas en función de los distintos niveles de aminoácidos, el valor medio se minimizó con los piensos cuyos niveles de Lys (7,3 g Lys/kg MS; $P < 0,085$) y metionina (5,2 g Met/kg MS; $P < 0,465$) eran medios, es decir, aquellos que coincidían con las actuales recomendaciones. Sin embargo, para la Thr el valor medio del PUN se minimizó cuando los animales recibieron el pienso con un nivel bajo de este aminoácido (5,3 g Thr/kg MS; $P < 0,03$), lo que podría indicar que las recomendaciones actuales de Thr (6,2 g Thr/kg MS) podrían estar sobreestimadas. Estos resultados son preliminares, dentro de una tesis doctoral dirigida a calcular las necesidades de aminoácidos en función de la GMD (incluyendo 4 tandas adicionales de animales).

Palabras clave: Conejos de engorde, necesidades, aminoácido, nitrógeno ureico plasmático, velocidad de crecimiento.

ABSTRACT

Nowadays, dietary protein level of fattening rabbits has been reduced to avoid frequent gastrointestinal problems observed during this period and to minimize the environmental impact. This reduction seems not be affecting commercial crossbred fattening rabbits, but those coming from lines highly selected for growth rate, seem to be not expressing all their genetic potential with under these conditions, widely affecting the genetic rankings and consequently adequate genetic material diffusion. Therefore, this thesis is an initial attempt to determine the optimal levels of Lysine (Lys), sulphurous amino acid (Methionine and Cysteine) and Threonine (Thr) in function of growth rate of rabbits, through a matrix of 27 feeds and, using the Plasmatic Ureic Nitrogen (PUN) level as a indicator of dietary amino acids imbalance. The study enrolled 432 rabbits, belonging to the R and V lines of Polytechnic University of Valencia, selected by growth rate and litter size, respectively. Each experimental feed was randomly assigned to each cage group of 8 rabbits, composed by animals from both genetic types, for a total of 27 cages per batch and two batches. The average daily gain (ADG) was significantly higher for the R-line, and similarly, average PUN level on R line (16.43 ± 0.19 mg/dL; $P < 0.001$) was greater that observed for the V-line (14.56 ± 0.38 mg/dL; $P < 0.001$). A possible explanation could be related to a greater amino acid imbalance on high growth rate animals. As regards differences on PUN level in function of dietary levels of Lys, sulphurous amino acid and Thr, average PUN reached the lowest levels for the medium level of dietary Lys (7.3 g Lys/kg DM), as well as for the medium level of dietary sulphur amino acids (5.2 g Met/kg DM), as suggested by the literature. However, average PUN was reached the lowest levels only with the lowest dietary Thr level evaluated (5.3 g Thr/kg DM), perhaps suggesting that current Thr recommendations (6.2 g Thr/kg DM) are over-estimated. These findings represent preliminary results; further research will build on this thesis to calculate the requirements of essential amino acid based on ADG (with 4 additional batches).

Keywords: Growing rabbits, requirements, amino acid, plasmatic ureic nitrogen, growth rate.

INTRODUCCION

España se sitúa como el tercer productor de carne de conejo de Europa (FAOSTAT, 2013). Desde hace décadas ha sido posible invertir en la mejora genética de esta especie, lo que ha permitido que la cunicultura mantenga su importancia en el sector agroalimentario. En la actualidad, se sigue trabajando para mejorar los índices productivos que más peso tienen en el rendimiento económico de las explotaciones de conejos, como el tamaño de camada (TC) en líneas maternas, o el índice de conversión (IC) en paternas (Baselga, 2004). El IC permite relacionar el incremento de peso de un animal con la cantidad de pienso que ha ingerido, lo que lo convierte en un índice de gran importancia, pues la alimentación representa aproximadamente el 60% de los costes fijos de una explotación (Cartuche et al., 2014). Sin embargo, la selección para mejorar el IC es compleja, por lo que se ha optado por la selección indirecta de líneas paternas por velocidad de crecimiento (VC) (Baselga M., 2004). Hay numerosos estudios que evidencian la existencia de una correlación genética negativa entre la selección por VC y la mejora del IC (Blasco, A., 1989; Moura et al., 1997; Piles et al., 2004). Esta selección ha avanzado considerablemente, obteniendo animales de hasta 70 g/d de ganancia media diaria (GMD) (Baselga 2016; comunicación personal).

En los trabajos de Marín-García et al. (2016a y 2016b) se comprobó que, en general, existe una relación positiva entre la deposición proteica en el músculo y la VC. No obstante, los conejos de engorde con altas VC tienen una retención proteica menor de la que cabría esperar en función de su GMD, por lo que estos animales podrían no estar mostrando todo su potencial genético. Si bien es cierto que, en producción animal, se sabe que paralelamente a la mejora genética, y al incremento de la VC, los requerimientos nutricionales de los animales aumentan, hay indicios de que los actuales piensos de engorde no estarían cubriendo las necesidades en estos animales. Todo ello podría explicar, en parte, algunos resultados observados en las líneas parentales en los últimos 20 años (Feki et al., 1996; Marín García et al., 2016b).

Para optimizar el IC de los animales de engorde deberíamos ajustar principalmente el nivel de proteína en los piensos comerciales. La proteína bruta (PB) es un elemento fundamental en la ración, pero incorporarlo en una cantidad mayor a las recomendaciones del 14-16% (de Blas y González-Mateos, 2010) genera varios problemas. El excedente de nitrógeno proteico excretado al medio es una fuente de contaminación medioambiental (Toledo et al., 2014), se pierde un valioso y caro nutriente, y por último, hay un aumento de la incidencia de enfermedades gastrointestinales como la enteropatía, asociada a un exceso del flujo de nitrógeno (N) ileal que no ha sido aprovechado por el animal (De Blas et al., 2007). Debido a esto, el contenido en PB de los piensos se ha reducido aún más, a la vez que se ha aumentado el de fibra (Trocino et al., 2013). Por todo lo expuesto anteriormente, sería conveniente encontrar un modo de suplir

correctamente los requerimientos proteicos, y una posibilidad sería formular en base a aminoácidos, proporcionando al animal la cantidad en función de su potencial de crecimiento.

Para realizar la síntesis proteica los animales necesitan aminoácidos, y algunos de ellos solamente pueden obtenerse a través de la dieta, éstos son conocidos como aminoácidos esenciales, y en función de la alimentación y sus necesidades pueden ser limitante o no en la síntesis proteica (Eggum, 1970). Si un aminoácido esencial, como por ejemplo la Lisina (Lys), Metionina (Met) o Treonina (Thr), es deficitario, el animal no podrá sintetizar más proteína que requiera del mismo (convirtiéndose éste en un aminoácido limitante), por lo que el resto de aminoácidos ingeridos no podrán ser utilizados para la síntesis proteica. El exceso de aminoácidos sufre una desaminación en el hígado que da lugar a urea, que es vertida al torrente sanguíneo aumentando el nitrógeno ureico plasmático (PUN), para ser finalmente excretada en la orina.

En algunas especies, como en porcino, se ha comprobado que la restricción de un aminoácido limitante en la dieta produce un aumento del PUN (Brown y Cline, 1974). Además, en el estudio de Coma et al. (1995), se observó que el PUN puede ser usado para determinar rápidamente los requerimientos de Lisina (Lys) en cerdos. En el estudio de Marín-García et al. (2016c) se puso a punto, por primera vez en conejos, un método en el que se utiliza el PUN como un indicador del desequilibrio de aminoácidos en los piensos de conejos. Según este estudio, un aumento del PUN estaría asociado al déficit de algún aminoácido limitante, aunque también puede deberse a un exceso de proteína en la dieta. Así, un pienso correctamente formulado y equilibrado, con la cantidad justa de cada aminoácido, sería aquel con el cual los conejos tendrían los niveles de PUN mínimos. Análogamente, un pienso desequilibrado maximizaría los niveles de PUN en sangre. De esta forma, el hecho de que la cantidad de nitrógeno ureico en sangre sea un indicativo de la calidad proteica del pienso podría abrir un gran abanico de posibilidades en la investigación sobre la nutrición de esta especie.

Ante esta situación, en la cual los conejos seleccionadas por VC pueden no estar expresando fenotípicamente la totalidad de su potencial genético, surge la necesidad de optimizar la nutrición para adecuarla a los requerimientos de los mismos. Se plantea la hipótesis de que formular los piensos en base a las necesidades de aminoácidos en función de la VC podría ser una solución al problema de deposición de proteína en este tipo de animales.

De esta forma, el objetivo de este trabajo sería estudiar, a través del nivel de PUN, las necesidades de los aminoácidos más limitantes en conejos de engorde (Lys, aminoácidos azufrados y Thr; de Blas y Mateos, 2010) de forma conjunta en función del tipo genético y de la velocidad de crecimiento.

MATERIAL Y METODOS

Procedimiento experimental

El experimento incluyó dos tandas de 216 gazapos. Los animales fueron destetados a los 28 días de edad, y tras ser pesados fueron alojados en 27 jaulas de engorde en grupos de 8. Se evitó el efecto genético debido a la camada, dejando en cada jaula representantes de cada línea y generación. Tras el destete fueron alimentados con un pienso de engorde formulado con la base de la Tabla 2, al que se le incluyeron los niveles de aminoácidos recomendados por De Blas y González-Mateos (2010). Tal y como establece el protocolo definido en Marín-García et al. (2016c), el día 47 de vida, a las 8:00h de la mañana, se introdujeron los piensos experimentales, previamente asignados de manera aleatoria a cada jaula. El día 48, tras 24 horas alimentándose con el pienso experimental, se procedió a la extracción de sangre a través de la arteria central de la oreja, obteniendo la primera muestra de sangre en viales con EDTA. Posteriormente se realizó una restricción de 10 horas y se extrajo la segunda muestra a las 21:00h (3 horas después del restablecimiento de la alimentación). Marín-García et al. (2016c) propone estos dos momentos como aquellos en los que se observa una mayor diferencia entre el nivel de PUN de una dieta equilibrada y otra no equilibrada, y una menor variabilidad de los resultados. Por último, el día 63, se obtuvieron los pesos de los animales para calcular la GMD durante el periodo de cebo. El esquema del procedimiento experimental se puede en la Tabla 1:

Tabla 1. *Esquema del procedimiento experimental*

Día de vida	1	28	29 ... 46	47	48	63
Tarea		Destete y Parto	Pienso recomendaciones	Pienso experimental	Extracción 8:00 y 21:00	Peso final

Piensos

A partir de una misma mezcla basal (dieta comercial formulada para ser baja en Lys, Met y Thr; Tabla 2) se creó una matriz de 27 piensos experimentales mediante la combinación de 3 niveles de Lys × 3 niveles de Met × 3 niveles de Thr. El pienso inicial fue formulado de acuerdo a las recomendaciones (De Blas y González-Mateos, 2010), a excepción de la Arg e His que se añadieron un 20% por encima de las recomendaciones estimadas para evitar que se pudiesen comportar como limitantes. Las inclusiones de los diferentes aminoácidos en los piensos se detallan en la Tabla 3. Todas las dietas experimentales fueron medicadas con Enconor 10% (Valnemulina clorhidrate, 35 ppm) y Neomicina 100 MAYMO (Neomicina Sulphate, 250 ppm) y contenían coccidiostático (Clinacox 0.5%, 1 mg/kg Diclazuril).

Tabla 2. *Ingredientes (%) y composición química (%) de la mezcla basal.*

Ingredientes	
Torta de girasol 28% PB	3,70

Harina de galletas	3,26
Salvado de trigo	30,00
DDG maíz	5,00
Melaza de remolacha	1,39
Heno alfalfa	33,34
Paja de cereal	13,66
Pulpa de remolacha	8,00
Carbonato cálcico	0,66
Sal de cantera	0,40
Flor de azufre	0,10
Cloruro de colina	0,07
Antioxidante (Luctanox 514)	0,02
Aromatizante (Luctarom conejos)	0,05
Corrector oligoelementos y vitaminas NL-310	0,30
Composición Química¹	
Materia Seca (MS)	90,68
Proteína Bruta (PB)	14,10
Lisina ²	0,518
Metionina + Cistina ²	0,363
Treonina ²	0,456
Grasa Bruta	2,69
Fibra Bruta	18,67
Cenizas	9,42
Fibra neutro detergente	41,34
Fibra ácido detergente	23,84
Lignina ácido detergente	4,82
Energía digestible (kcal/kg)	2140
Proteína digestible	9,87

¹determinado por NIR en NANTA (empresa suministradora de la mezcla base)

² determinados por HPLC en el ICTA (UPV).

Desde los 28 a los 46 días de edad los animales recibieron la dieta MMM (con los niveles de Lys, azufrados y Thr recomendados por De Blas y González-Mateos, 2010). Los animales se alimentaron de los piensos experimentales los 47 y 48 de vida. Tras la segunda extracción de sangre a las 9.00 p.m. todos los animales recibieron el pienso MMM hasta el final del periodo de engorde (63 días de edad).

Tabla 3. Niveles de aminoácidos de los piensos experimentales (g/kg)

	Lys	Met	Thr	Arg	His
Nivel Alto (A)	8,5 ¹	6,0	7,1		
Nivel Medio (M) ¹	7,3	5,2	6,2		

Nivel Bajo (B)	6,1	4,4	5,3		
BBB	6,1	4,4	5,3		
BBM	6,1	4,4	6,2	3,7	1,8
BBA	6,1	4,4	7,1	3,7	1,8
BMB	6,1	5,2	5,3	3,7	1,8
BMM	6,1	5,2	6,2	3,7	1,8
BMA	6,1	5,2	7,1	3,7	1,8
BAB	6,1	6,0	5,3	3,7	1,8
BAM	6,1	6,0	6,2	3,7	1,8
BAA	6,1	6,0	7,1	3,7	1,8
MBB	7,3	4,4	5,3	3,7	1,8
MBM	7,3	4,4	6,2	3,7	1,8
MBA	7,3	4,4	7,1	3,7	1,8
MMB	7,3	5,2	5,3	3,7	1,8
MMM (pienso recomendaciones)	7,3	5,2	6,2	3,7	1,8
MMA	7,3	5,2	7,1	3,7	1,8
MAB	7,3	6,0	5,3	3,7	1,8
MAM	7,3	6,0	6,2	3,7	1,8
MAA	7,3	6,0	7,1	3,7	1,8
ABB	8,5	4,4	5,3	3,7	1,8
ABM	8,5	4,4	6,2	3,7	1,8
ABA	8,5	4,4	7,1	3,7	1,8
AMB	8,5	5,2	5,3	3,7	1,8
AMM	8,5	5,2	6,2	3,7	1,8
AMA	8,5	5,2	7,1	3,7	1,8
AAB	8,5	6,0	5,3	3,7	1,8
AAM	8,5	6,0	6,2	3,7	1,8
AAA	8,5	6,0	7,1	3,7	1,8

¹ Los valores medios son las recomendaciones establecidas por de Blas y González-Mateos (2010).

Animales

Fueron utilizados un total de 432 animales, de dos líneas genéticas pertenecientes a la Universidad Politécnica de Valencia, divididos en 2 tandas de 216 (27 julas de 8 animales). La línea R es una línea paterna seleccionada por VC, cuyo principal criterio de selección es mejorar la GMD entre destete (28 días) y el sacrificio (63 días) (Estany et al., 1992). La otra línea utilizada ha sido la V (generación 42), una línea materna seleccionada por tamaño de camada al destete (Baselga, 2002b). Se seleccionaron ambas líneas para obtener una amplia gama de GMD, habiendo siempre representantes de las dos líneas en cada jaula.

Determinaciones analíticas

La composición química del pienso inicial fue determinada por NIR y por los métodos tradicionales. El contenido aminoacídico fue determinado después de una hidrólisis ácida con HCL 6N a 110°C durante 23h, como describe Bosch et al., 2006. Se usó un HPLC Waters (Milford, MA, USA), que consiste en dos bombas (Mod. 515, Waters), un inyector (Mod 717, Waters), un detector fluorescente (Mod. 474, Waters) y un módulo de control de temperatura. Tras la hidrólisis se añadió ácido aminobutírico. Los aminoácidos fueron derivatizados con AQC (6-aminoquinol-N-hidroxisuccinimidil carbamato) y separados con una columna de fase inversa C-18 Watter Tag (150 mm x 3.9 mm). La Met y la Cis fueron determinados de forma separada como metionina sulfona y ácido cisteico respectivamente, después de una oxidación con ácido perfórmico seguido de una hidrólisis ácida.

La determinación del PUN se realizó utilizando un kit para determinar urea en plasma (Urea/BUN-COLOR; BioSystems S.A., Barcelona, España). Se pipetea 1 µL de cada muestra de plasma en tubos de ensayo identificados (realizando en cada tanda un blanco y un patrón) y posteriormente se añade a cada muestra 1 mL del Reactivo A (salicato sódico 62 mmol/L, nitroprusiato sódico 3.4 mmol/L, tampón fosfatos 20 mmol/L y ureasa 500 U/mL). Tras esta adición las muestras son sometidas a una agitación e incubación durante 5 minutos a 37°C. A continuación, se pipetea 1 mL del Reactivo B (hipoclorito sódico 7 mmol/L e hidróxido sódico 150 mmol/L) y se vuelve a agitar e incubar durante 5 minutos a 37°C. Finalmente se procede a la lectura de absorbancia del patrón y de la muestra a 600 nm frente al blanco. Los valores de absorbancia obtenidos son introducidos en una fórmula proporcionada por el kit para, finalmente, calcular los mg de PUN por dL de plasma sanguíneo.

Análisis estadísticos

Los datos relativos a la GMD se analizaron mediante un procedimiento GLM de SAS (2009). El modelo incluyó el nivel de Lys, Met y Thr (3 niveles cada uno) y sus interacciones, así como el tipo genético (R y V) y los lotes (1 y 2) como factores fijos. Por otra parte, se analizaron los datos relativos al PUN usando un modelo mixto para medidas repetidas (SAS, 2009). En este caso, el modelo incluye el nivel de Lys, Met y Thr (3 niveles cada uno) y el tiempo de muestreo (08:00 y 21:00) y sus interacciones, así como el tipo genético (V y R) y los lotes (1 y 2) como factores fijos, y el efecto permanente de cada hembra (p) y el término de error (e) como de efectos aleatorios. La matriz de varianzas-covarianzas que mejor se ajustó fue el tipo desestructurada (Unstructured). El análisis se repitió posteriormente incluyendo la GMD como covariable para evaluar su efecto sobre el nivel de PUN independientemente del tipo genético.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 muestra la distribución de frecuencias para los animales en función de su GMD. Se puede observar la clara existencia de dos subpoblaciones

pertenecientes a las líneas V y R, con dos picos en 34 y 48 g/d, respectivamente. Estos resultados concuerdan con las diferencias entre los dos tipos genéticos mostrados por Baselga (2004). La distribución muestra que a ambos lados de la gráfica (bajas y altas GMD) hay una falta de representantes, lo que revela que la mayoría de animales del estudio tenían una GMD entre 30 y 55 g/d. En una futura ampliación del trabajo, los animales deberían ser elegidos con el objetivo de cubrir estas zonas vacías, y así obtener una representación más homogénea y representativa a lo largo de todas las GMD de interés.

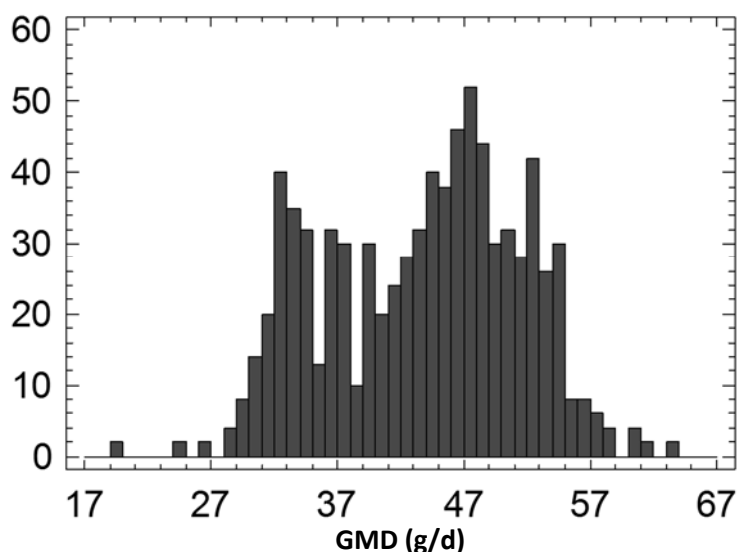


Figura 1. Distribución de frecuencias de los animales en función de su ganancia media diaria (GMD) durante el periodo de engorde.

En la Tabla 4 se representa el efecto de la línea genética sobre la GMD y el PUN. Tal y como se ha mencionado anteriormente, los animales pertenecientes a la línea R muestran una mayor GMD que aquellos de la línea V ($+13,38 \pm 0,39$ g/d; $P < 0,001$). Paralelamente, se observa que los valores de PUN de la línea R son superiores los de la V ($+1,84 \pm 0,49$ mg/dL; $P < 0,001$). Este aumento del PUN en los animales de la línea R podría deberse a su mayor ingestión de pienso. Sin embargo, en el estudio de Marín-García et al 2016c se comprobó que, aunque el PUN variaba en función de la ingestión con piensos equilibrados, la inclusión de la ingestión como covariable no mejoraba la precisión de la estimación del PUN en piensos que diferían en el balance de aminoácidos.

Además, cuando se incluimos la GMD como covariable en el modelo, sin la inclusión de la línea genética como efecto fijo, se observó un aumento lineal y significativo del nivel de PUN conforme la GMD era mayor ($+0,045 \pm 0,015$ mg/dL por cada g de la GMD; $P = 0,003$). Sin embargo, cuando el modelo incluía tanto la línea genética como efecto fijo y como la GMD como covariable, el único efecto significativo fue la línea genética. Estos resultados revelan que, con los datos disponibles actualmente, las diferencias observadas en el PUN de los animales eran debidas principalmente a la línea genética, no observándose una

modificación significativa del PUN cuando la GMD cambia dentro de cada línea genética.

Tabla 4. Efecto del tipo genético sobre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y los valores de nitrógeno ureico plasmático (PUN) a los 48 días de edad cuando los conejos recibían los piensos experimentales.

Línea	V	R	P_valor
GMD (g/d)	34,03 ^a ± 0,33	47,42 ^b ± 0,20	<0,0001
PUN (mg/dL Plasma)	14,56 ^a ± 0,38	16,43 ^b ± 0,19	<0,0001

La Figura 2 representa la relación entre los niveles de PUN y de GMD para cada uno de los individuos del estudio (diferenciándose por líneas genéticas). En ambos casos la pendiente es positiva (el PUN aumenta cuando lo hace la GMD), siendo la línea R la que muestra un mayor aumento de PUN (+0,0764) por unidad de GMD si se compara con (+0,044), no obstante, no existen diferencias significativas. Una posible explicación, a confirmar en un futuro, sería que las actuales dietas (con un contenido bajo de proteínas) resultan más desequilibradas para la línea R que para la V. De hecho, Carabaño et al. (2009) propusieron que las dietas equilibradas con un 14% de PB no influyen negativamente en el crecimiento de los conejos normales, pero podría no ser suficiente para los animales o periodos con mayor demanda (como los conejos con altas tasas de crecimiento).

En cualquier caso, la debilidad de estos resultados preliminares muestran la necesidad de un mayor número de animales en aquellas GMD con pocos representantes (bajo y alto crecimiento) para confirmar los resultados.

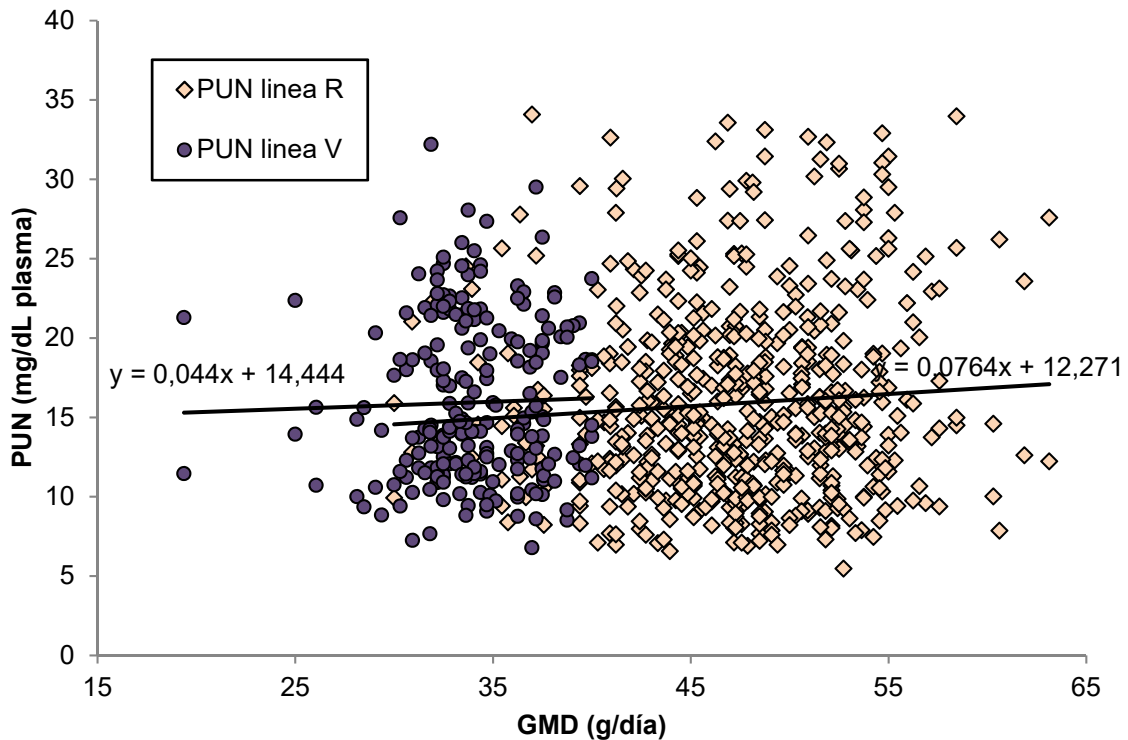


Figura 2. Relación entre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y el nitrógeno ureico plasmático (PUN) obtenido a los 48 días de edad cuando los conejos recibían los piensos experimentales.

En la Figura 3 se representan los valores medios del PUN para cada uno de los 27 piensos experimentales evaluados, en función de la GMD para las dos líneas (R y V). El objetivo sería que, para cada línea, todos los piensos se situasen en la GMD media de la línea para poder hacer comparaciones del PUN entre piensos. Sin embargo, a día de hoy no es posible debido al número de animales utilizado. No obstante, sí es posible comparar entre los piensos que se sitúan en una misma GMD.

Por ejemplo, podríamos comparar los piensos 1 (BAA) y 2 (MAB) en la línea V, (ambos con una GMD media de 32 g/d), que difieren considerablemente en su nivel de PUN medio (16,6 y 11,5 mg/dL respectivamente). De esta comparación se puede plantear la hipótesis de que los animales con bajas tasas de crecimiento (y probablemente con necesidades proteicas menores), un exceso de Thr podría llevar a un aumento del PUN. Por otro extremo, en la línea R sería posible comparar los piensos 3 (ABA) y 4 (MMA) que se encuentran en una GMD media similar (50 g/d) y que difieren en el nivel medio de PUN (18,0 y 14,1 mg/dL, respectivamente). En esta ocasión, podríamos hipotetizar que los animales con altas tasas de crecimiento (necesidades proteicas altas) un exceso de Lys combinado con una falta de aminoácidos azufrados podría llevarlos a aumentar su nivel de PUN. En cualquier caso, no debemos olvidar que este estudio es un primer acercamiento, por lo que no hay que sacar conclusiones sin suficientes evidencias.

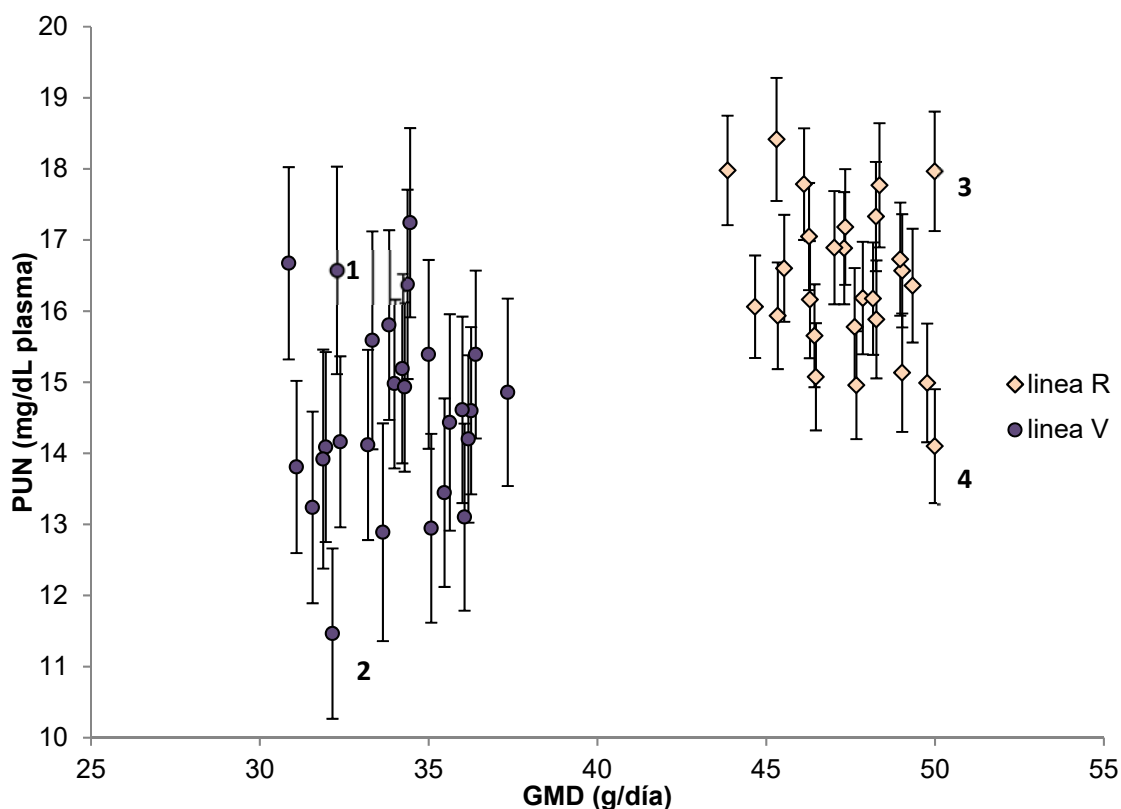


Figura 3. Relación entre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y el nitrógeno ureico plasmático (PUN) obtenido a los 48 días de edad cuando los conejos recibían los piensos experimentales (agrupados por piensos).

La Tabla 5 reúne los valores de PUN medios para los diferentes niveles de aminoácidos y momentos de extracción. En general, el valor medio de PUN más bajo fue obtenido cuando las dietas eran suplementadas con niveles de Lys medios (7,3 g/kg MS), de acuerdo a las recomendaciones de De Blas y González-Mateos (2010). Este resultado parece asegurar que los actuales niveles de Lys recomendados para conejos de engorde son correctos. En el caso de los aminoácidos sulfurados, no se observaron diferencias significativas en función de la cantidad ingerida, pero los datos se comportan de manera similar a los vistos en la Lys. Por otro lado, el menor valor de PUN fue obtenido cuando las dietas fueron suplementadas con un nivel bajo de Thr (5,3 g/kg MS), aumentando el PUN a medida que lo hacía el nivel de Thr del pienso ($P < 0,03$). Este resultado sugiere que quizá las actuales recomendaciones de Thr para los conejos de engorde (6,2 g/kg MS) podrían estar sobreestimadas.

Por otra parte, la extracción de sangre realizada por la tarde, tras la restricción (21:00), tuvo un PUN significativamente mayor ($P < 0,0001$) respecto a la extracción de por la mañana bajo alimentación ad libitum (8:00) ($+8,36 \pm 0,36$ mg/dL; $P < 0,001$). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Marín-García et al. (2016a) para estos mismos momentos y manejo de la alimentación, y relacionados podrían estar relacionados con una ingestión de pienso mayor y

más homogénea en los conejos de engorde a últimas horas de la tarde tras un periodo de restricción.

Tabla 5. Efecto de los diferentes niveles de lisina, metionina+cisteína y treonina (bajo, B; medio, M; alto, A) y la hora de extracción en el nitrógeno ureico plasmático (PUN) a los 48 días de edad

			PUN	±	SE
Lisina	B	6,1 g/Kg MS	15,67 ^{ab}	±	0,28
	M	7,3 g/kg MS	15,05 ^a	±	0,26
	A	8,5 g/kg MS	15,80 ^b	±	0,26
Metionina + Cisteína	B	4,4 g/kg MS	15,74 ^a	±	0,27
	M	5,2 g/kg MS	15,29 ^a	±	0,27
	A	6 g/kg MS	15,50 ^a	±	0,27
Treonina	B	5,3 g/kg MS	14,98 ^a	±	0,27
	M	6,2 g/kg MS	15,65 ^{ab}	±	0,26
	A	7,1 g/kg MS	15,90 ^b	±	0,28
Hora de extracción	Mañana		11,31 ^a	±	0,16
	Tarde		19,67 ^b	±	0,25
P-valor	Lisina		0,085		
	Azufrados		0,465		
	Treonina		0,030		
	Hora		0,0001		

Finalmente, en las siguientes Figuras (Figuras 4, 5 y 6) se ilustra, para cada aminoácido, la relación entre la VC y el PUN de todos los animales del experimento. Pese a que estas figuras son difíciles de interpretar, la Figura 4 muestra que aquellos valores de PUN elevados (>30 mg/dL de plasma) únicamente son alcanzados por animales alimentados con niveles de Thr medios o altos, lo que podría reforzar la idea de que las recomendaciones de THR estuvieran sobreestimadas.

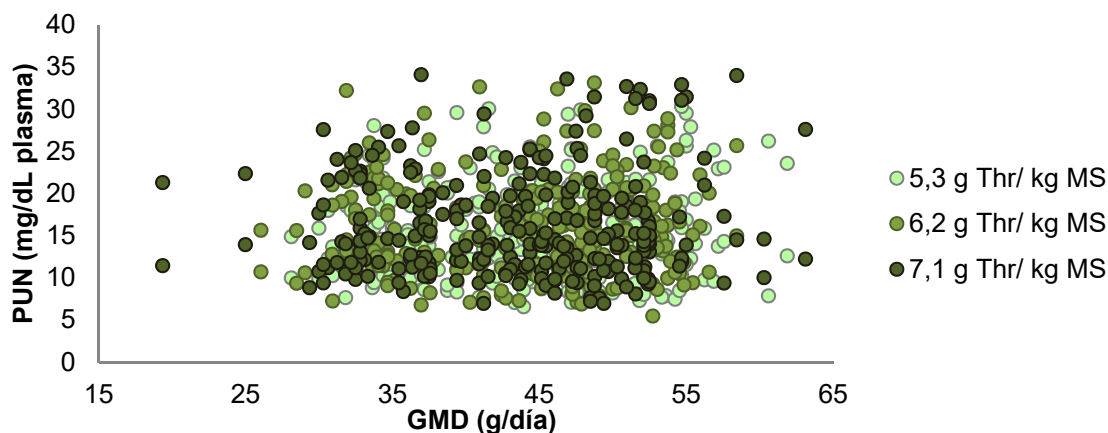


Figura 4. Relación entre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y el nitrógeno ureico plasmático (PUN) obtenido a los 48 días de edad en función del nivel de Thr.

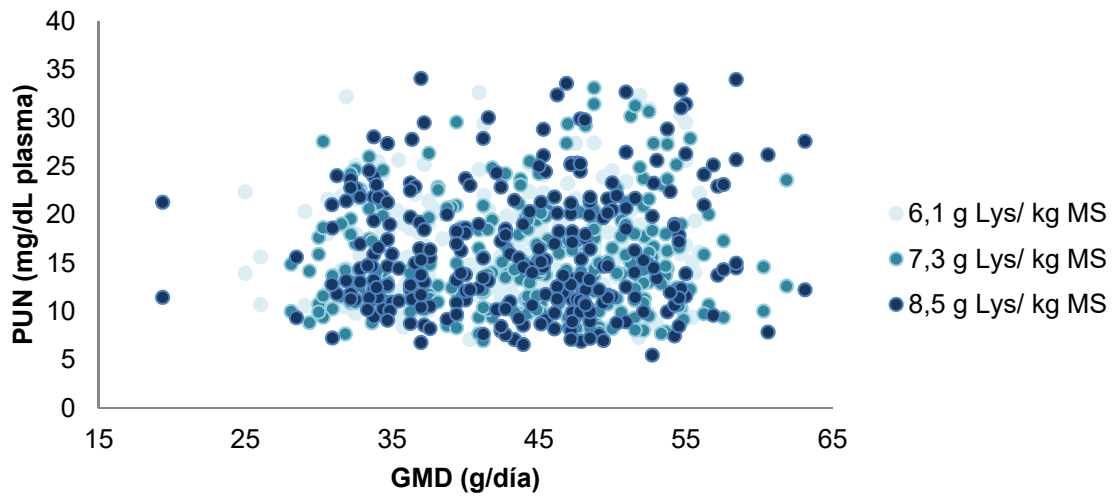


Figura 5. Relación entre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y el nitrógeno ureico plasmático (PUN) obtenido a los 48 días de edad en función del nivel de Lys

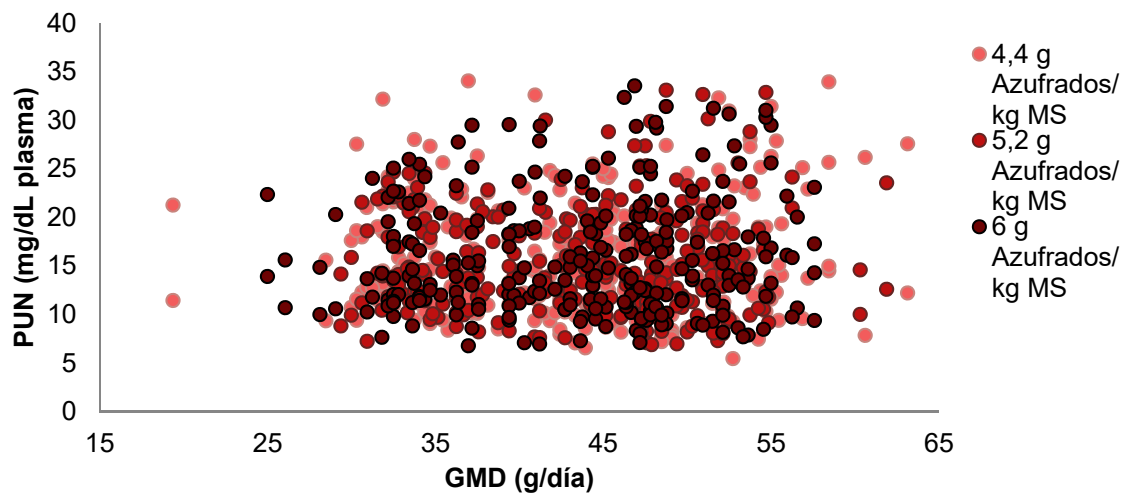


Figura 6. Relación entre la ganancia media diaria (GMD) desde los 28 a los 63 días de edad y el nitrógeno ureico plasmático (PUN) obtenido a los 48 días de edad en función del nivel de aminoácidos azufrados

CONCLUSIONES

El presente trabajo forma parte de un estudio más completo, siendo un primer acercamiento para comprobar el posible efecto de la GMD y la línea genética en los requerimientos de los tres primeros aminoácidos limitantes del crecimiento en las dietas de conejos (lisina, aminoácidos azufrados y treonina).

Se puede confirmar que los animales de la línea seleccionada por GMD (línea R) tuvieron un mayor nivel de PUN que los seleccionados por tamaño de camada (línea V), caracterizada por tener una GMD menor. Estos resultados preliminares mostraron que los valores medios de PUN son más bajos cuando las dietas siguen las recomendaciones de lisina y aminoácidos azufrados actuales (7,3 y 5,2 g/kg MS, respectivamente), pero con niveles más bajos de Thr (5,3 g/kg MS). Esto sugiere que las recomendaciones actuales de treonina (6,2 g/kg MS) para la alimentación de los conejos de engorde comerciales podrían estar sobreestimadas.

BIBLIOGRAFIA

- Baselga, M. (2002b). Línea V (España). En: Khalil M.H. (ed.), Baselga M. (ed.) Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. *CIHEAM*, Zaragoza pp. 235-241.
- Baselga, M. (2004). Genetic improvement of meat rabbits. Programmes and diffusion. *Proceedings 8th World Rabbit Congress*. Puebla. México.
- Baselga, M., (2002a). Línea R (España). En: Khalil M.H. (ed.), Baselga M. (ed.) Rabbit genetic resources in Mediterranean countries. *CIHEAM*, Zaragoza pp. 257-262.
- Blasco, A. (1989). Genética y nutrición del conejo. En C. de Blas: *Alimentación del conejo*. Ediciones Mundi Prensa, Madrid
- Brown, J., Cline, T. (1974). Urea Excretion in the pig: and indicator of protein quality and amino acid requirements. *Journal of Nutrition*, 104: 542-545.
- Carabaño, R., Villamide, M.J., García, J., Nicodemus, N., Llorente, A., Chamorro, S., Menoyo, D., García-Rebollar, P., García-Ruiz, A.I., De Blas, J.C. (2009). New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 1-14.
- Cartuche, L., Pascual, M., Gómez, E.A., Blasco, A. (2014). Economic weights in rabbit meat production. *World Rabbit Science*, 22: 165-177.
- Coma, J., Carrion, D., Zimmerman, R. (1995). Use of plasma urea nitrogen as a rapid response criterion to determine the lysine requirement of pigs. *Journal of animal science* 73:472-481. doi:/1995.732472x
- De Blas, C., Astillero, R., Chamorro, S., Corujo, A., García-Alonso, J., García-Rebollar, P., García-Ruiz, I., Menoyo, D., Nicodemus, N., Romero C., Carabaño, R. (2007). Efectos de la nutrición y el manejo sobre el desarrollo de patologías digestivas de gazapos en un entorno de enteropatía epizoótica. *XXIII Curso de especialización FEDNA*, Madrid.
- De Blas, J.C., González-Mateos, G. (2010). Feed Formulation. En: De Blas C., Wiseman J. (eds). *Nutrition of the Rabbit*. CABI Publishing. CAB International, Wallingford Oxon, UK, 222- 232.
- Eggum, B. O. (1970). Blood urea measurement as a technique for assessing protein quality. *Br. J. Nutr.* 24: 983.
- Estany, J., Camacho, J., Baselga, M., Blasco, A. (1992). Seleccin response of growth rate in rabbit for meat production. *Genet. Sel. Evol.* 24: 527-537.

- FAO, STAT. Statistic data: food and agriculture organization. [en línea] Octubre, 2013. [Consultado el: 21 de Septiembre de 2013] Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569#ancr>
- Feki, S., Baselga, M., Blas, E., Cervera, C. y Gomez, E.A. (1996) Comparison of growth and feed efficiency among rabbit lines selected for different objectives. *Livestock Production Science* 45: 87-92.
- Marín-García, P.J., Blas, E. Cervera, C. Pascual, J.J. (2016a). Effects of the animal breeding about growth rate on nutritional parameters in rabbits. *World Rabbit Congress*, Quindago.China.
- Marín-García, P.J., Blas, E. Cervera, C. Pascual, J.J. (2016b). A deficient protein supply could be affecting selection for growth rate in rabbits. *Annual Meeting of the European Federation of Animal Science*. Belfast, UK.
- Marín-García, P.J., Blas, E. Cervera, C. Pascual, J.J. (2016c). El nitrógeno Ureico plasmático como indicador de desequilibrio en aminoácidos de conejos: evolución diaria. *41º Symposium de cunicultura de ASESCU*, Hondarribia 2016.
- Moura, A.S., Kaps, M., Vogt, D.W., Lamberson, W.R. (1997). Two-way selection for daily gain and feed conversion in a composite rabbit population. *Journal of Animal Science*, 75: 2344-2349.
- Piles, M., Rafel, O., Ramón, J., Gómez, E.A. (2004). Crossbreeding parameters of some productive taitis in meat rabbits. *World Rabbit Science* 12: 139-148.
- SAS Institute. 2002. SAS/STAT® User's Guide (Release 9.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.
- Toledo, J., Furlan, A., Pozza, P., Piano, L., Carvalho, P., Peñuela-Sierra, L., Huepa, L. (2014). Effect of the reduction of the crude protein content of diets supplemented with essential amino acids on the performance of piglets weighing 6-15 kg. *Livestock Science* 168: 94-101.
- Trocino, A., García, J., Carabaño, R., Xiccato, G., (2013). A meta-analysis on the role of soluble fibre in diets for growing rabbits. *World Rabbit Science*., <http://dx.doi.org/10.4995/wrs.2013.1285>.