



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escuela Técnica Superior
de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural

GRADO DE INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

Verificación de la *ratio* proteína digestible/energía digestible (PD/ED) y efectos sobre el ambiente cecal de dos piensos para conejos en crecimiento

Trabajo Fin de Grado

Autor: Eugenia Gómez Barbero

Director: Enrique Blas Ferrer

Curso académico 2018-2019

Valencia, 8 de Julio del 2019

TÍTULO: Verificación de la *ratio* proteína digestible/energía digestible (PD/ED) y efectos sobre el ambiente cecal de dos piensos para conejos en crecimiento

RESUMEN

Los objetivos del presente trabajo fueron: i) Verificar la *ratio* PD/ED de dos piensos para conejos en crecimiento y, ii) Comprobar los posibles efectos de esta variación dietaria sobre el ambiente cecal.

Para ello, se formularon (con las tablas de composición y valor nutritivo de los alimentos habitualmente utilizadas en España) y fabricaron dos piensos experimentales. El pienso B se formuló para tener una *ratio* PD/ED habitualmente recomendada en los piensos para conejos de engorde (10,5 g/MJ). El pienso A se formuló para tener una *ratio* PD/ED más alta (12,0 g/MJ), sustituyendo la harina de soja 44 por concentrado proteico de soja.

Se utilizaron en total 102 gazapos destetados (28 días de vida) de la línea R de la Universidad Politécnica de Valencia, que se alojaron en jaulas individuales y tuvieron libre acceso al pienso correspondiente y al agua durante todo el experimento. Se utilizaron 48 animales (49 a 53 días de vida) para ensayos de digestibilidad (26 en el primer ensayo, 13/pienso; 22 en el segundo ensayo, 11/pienso) y 54 animales (42 días de vida) para valorar el ambiente cecal (27/pienso), distribuidos en tres lotes (de 24, 22 y 8 animales cada uno).

Como resultado de la sustitución de harina de soja 44 por concentrado proteico de soja, se aumentó la *ratio* PD/ED del pienso, aunque los valores obtenidos (10,3 y 11,7 g/MJ, para el pienso B y el pienso A, respectivamente) estuvieron ligeramente por debajo de los valores previstos.

Para tratar de ajustarlas aún más, las fórmulas iniciales se corrigieron ligeramente, sustituyendo en ambas 0,6% de heno de alfalfa por 0,6% de concentrado proteico de soja. Sin embargo, la *ratio* PD/ED de los piensos corregidos aumentó más de lo esperado, aunque las diferencias entre ambos piensos se mantuvieron (11,2 y 12,6 g/MJ, para el pienso B y el pienso A, respectivamente). Estos resultados serían fruto del error asociado a las distintas fases del experimento (fabricación de los piensos, toma de muestras de los piensos, ensayos de digestibilidad, constitución y toma de muestras de los pooles de heces, análisis de PB y EB).

Por otro lado, el pienso no afectó a ninguna de las variables que conforman el ambiente cecal (MS, pH, AGV y NH₃), confirmándose la hipótesis inicial.

Palabras clave: proteína digestible, energía digestible, ambiente cecal, conejos en crecimiento

Autora del TFG: Eugenia Gómez Barbero

Tutor Académico: Enrique Blas Ferrer

Valencia, 8 de Julio de 2019

TITLE: Verification of the digestible protein/digestible energy *ratio* (DP/DE) and effects on the caecal environment of two feed for growing rabbits

ABSTRACT

The objectives of the present study were: i) Verify the DP/DE *ratio* of two feed for growing rabbits and ii) To check the possible effects of this dietary variation on the caecal environment.

To do this, two feeds were formulated (with the tables of composition and nutritional value of feedstuffs commonly used in Spain) and manufactured. Feed B was formulated to have a DP/DE *ratio* usually recommended for growing rabbits (10.5 g/MJ). Feed A was formulated to have a higher DP/DE *ratio* (12.0 g/MJ), replacing soybean meal 44 with soy protein concentrate.

A total of 102 weaned rabbits (28 day-old) were used from the R line of the Polytechnic University of Valencia, which were housed in individual cages and had free access to the corresponding feed and water throughout the experiment. Of them, 48 animals (49 to 53 day-old) were used for digestibility trials (26 in the first trial, 13/feed, 22 in the second trial, 11/feed) and 54 animals (42 day-old) to assess the caecal environment (27/feed), distributed in three batches (24, 22 and 8 animals each).

As a result of replacing soybean meal 44 with soy protein concentrate, the DP/DE *ratio* increased, although the values obtained (10.3 and 11.7 g/MJ, for feed B and feed A, respectively) were slightly below the predicted values.

Trying to adjust them further, the initial formulas were slightly corrected, substituting in both 0.6% alfalfa hay for 0.6% soybean protein concentrate. However, the DP/DE *ratio* of the corrected feeds increased more than expected, although the differences between the two feeds remained (11.2 and 12.6 g/MJ, for feed B and feed A, respectively). These results would be a consequence of the error associated to the different phases of the experiment (feed manufacturing, feed sampling, digestibility trials, constitution and sampling of faecal pools, CP and GE analysis).

On the other hand, the feed did not affect any of the variables determining the caecal environment (DM, pH, VFA and NH₃), confirming the initial hypothesis.

Keys words: digestible protein, digestible energy, caecal ambient, growing rabbits

Author of the FDW: Eugenia Gómez Barbero

Academic tutor: Enrique Blas Ferrer

Valencia, July, 8th, 2019

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor, Enrique Blas, por su apoyo, dedicación y ayuda a la hora de redactar el trabajo.

A los técnicos tanto de laboratorio como de granja, Luis Rodenas, Eugenio Martínez-Paredes y Maricarmen López, por ayudarme y explicarme todo lo que necesitaba y más.

A mi novio, Luis Fernández, por ayudarme, darme todo su apoyo y estar ahí siempre.

A mi familia, por no dejar que me rindiera por mucho que me fuera mal, y alegrarse cuando por fin las cosas marchaban bien.

A mi amiga, Bea Rech, por esos momentos de locura cuando ni ella ni yo sabíamos como seguir con el trabajo y por todo su apoyo y ayuda durante la carrera.

A mi mejor amiga, Inés Castelló, por seguir ahí incluso cuando la universidad hizo que nos distanciáramos.

A mi amigo, José López, por escuchar todas mis quejas y apoyarme.

A mis amigos, Marina Cerdà, Pablo Cordobés, Jaime Giner y Maribel Suay, por ser mis puntos de apoyo durante estos años, tanto durante las clases, los trabajos y los ratos libres que teníamos para descansar y volver a ser un poco personas.

Y, a todas las personas que he ido conociendo tanto buenas como malas, que me han hecho cambiar y mejorar como persona.

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN.....	8
1.1	PROTEÍNAS Y SU DIGESTIÓN	8
1.2	VALORACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO DE LOS ALIMENTOS	8
1.3	<i>RATIO</i> PD/ED EN PIENSOS PARA CONEJOS EN CRECIMIENTO	9
1.4	EFFECTOS DE CONTENIDO PROTEICO DEL PIENSO SOBRE LA SALUD DIGESTIVA DE LOS CONEJOS EN CRECIMIENTO.....	10
1.5	APORTE PROTEICO EN CONEJOS SELECCIONADOS POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO	11
2	OBJETIVOS	13
3	MATERIAL Y MÉTODOS	14
3.1	INSTALACIONES.....	14
3.2	PIENSOS EXPERIMENTALES	16
3.3	ANIMALES.....	18
3.3.1	Ensayos de digestibilidad	18
3.3.2	Ambiente cecal.....	18
3.4	PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ANÁLISIS QUÍMICOS.....	18
3.4.1	Preparación de muestras de piensos y heces	18
3.4.2	Análisis químico.....	21
3.5	CÁLCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	22
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1	VERIFICACIÓN DE LA <i>RATIO</i> PD/ED	23
4.1.1	Composición de los piensos iniciales	23
4.1.2	Digestibilidad de los piensos iniciales	23
4.1.3	Composición de los piensos corregidos	24
4.1.4	Digestibilidad de los piensos corregidos	25
4.2	AMBIENTE CECAL	25
5	CONCLUSIONES	27
6	BIBLIOGRAFÍA.....	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes de los piensos experimentales	17
<i>Tabla 2. Composición teórica de los piensos experimentales según tablas FEDNA (2010)</i>	17
Tabla 3. Composición de los piensos iniciales.....	23
Tabla 4. Digestibilidad de los piensos iniciales.....	24
Tabla 5. Comparación de las ratios PD/ED teóricas y observadas de los piensos iniciales.....	24
Tabla 6. Composición de los piensos corregidos.....	24
Tabla 7. Digestibilidad de los piensos corregidos	25
Tabla 8. Comparación de las ratios PD/ED teóricas y observadas de los piensos corregidos	25
Tabla 9. Efecto del pienso sobre el ambiente cecal	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la producción cunícola intensiva. Fuente: Elaboración propia.....	12
Figura 2. Localización de la granja. Fuente: Google Maps.....	14
Figura 3. Detalle de la nave de engorde por dentro. Fuente: Elaboración propia.....	15
Figura 4. Jaula de digestibilidad. Fuente: Elaboración propia.....	15
Figura 5. Dispositivo para colecta de heces y cubeta para recoger la orina. Fuente: Elaboración propia.....	16
Figura 6. Detalle de la rejilla para retener las heces. Fuente: Elaboración propia.....	16
Figura 7. Bolsas de heces. Fuente: Elaboración propia.....	19
Figura 8. Molino C&N. Fuente: Elaboración propia.....	19
Figura 9. Detalle de los martillos del molino C&N. Fuente: Elaboración propia.....	19
Figura 10. Detalle de la criba del molino C&N. Fuente: Elaboración propia.....	20
Figura 11. Molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.....	20
Figura 12. Detalle de los martillos del molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.....	20
Figura 13. Detalle de criba del molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.....	21

ABREVIATURAS

AGV: Ácidos Grasos Volátiles

dEB: digestibilidad de la Energía Bruta

dMS: digestibilidad de la Materia Seca

dPB: digestibilidad de la Proteína Bruta

EB: Energía Bruta

ED: Energía Digestible

EE: Extracto Etéreo

FAD: Fibra Ácido Detergente

FND: Fibra Neutro Detergente

GLM: General Linear Model

LAD: Lignina Ácido Detergente

MS: Materia Seca

PB: Proteína Bruta

PD: Proteína Digestible

1 INTRODUCCIÓN

1.1 PROTEÍNAS Y SU DIGESTIÓN

Las proteínas son compuestos macromoleculares constituidos por cadenas de aminoácidos unidos covalentemente mediante enlaces peptídicos, que se pliegan en tres dimensiones para formar una estructura terciaria característica. Algunos de los aminoácidos (lisina, metionina, treonina, triptófano, valina, isoleucina, leucina y fenilalanina) se consideran esenciales porque no pueden ser sintetizados por los animales superiores.

En la práctica, las proteínas de los piensos para conejos son exclusivamente de origen vegetal. En los cereales, la mayor parte de la proteína (70%) está contenida en el endosperma y el resto se distribuye entre el germen y los tegumentos; albúminas y globulinas son proteínas solubles presentes en el citoplasma mientras que prolaminas y glutelinas son proteínas insolubles de reserva, siendo las proporciones de los distintos tipos de proteína variables entre los distintos cereales. En comparación con los cereales, las legumbres y semillas oleaginosas tienen mayor contenido proteico, mayor proporción de proteínas citoplasmáticas y mayor proporción de aminoácidos esenciales (particularmente lisina); sin embargo, contienen distintos tipos de factores antinutritivos (inhibidores de tripsina, lectinas, taninos) que obligan a diferentes tipos de procesado para evitar los problemas derivados. En las plantas forrajeras, la mayor parte de la proteína la aportan las hojas, por lo que su composición aminoacídica es poco variable.

La digestión de proteínas consiste en su degradación, a través de un proceso de hidrólisis a péptidos, tridipéptidos y dipéptidos, y finalmente a aminoácidos libres para poder ser absorbidos en el intestino delgado. Las proteínas sufren su primer ataque en el estómago por la pepsina; la pepsina comienza a escindir las largas cadenas de aminoácidos, más o menos ramificados y enrollados. A su paso por el intestino delgado, las proteínas son atacadas por los fermentos proteolíticos del jugo pancreático y jugo intestinal; la tripsina y la quimotripsina tienen acciones específicas, mientras que otros enzimas tienen una acción más polivalente. Los aminoácidos se absorben por la mucosa intestinal para pasar hacia el flujo sanguíneo, por donde se trasladan a los distintos puntos de utilización: las células del organismo.

Durante el tránsito por el intestino, la degradación proteica casi nunca es total, quedando siempre un resto que pasa al intestino grueso mezclado con enzimas y otras proteínas endógenas. Esta fracción, cuando se halla en el ciego, es utilizada por los microorganismos del ciego en su provecho. En el caso del conejo, la proteína microbiana sintetizada en el ciego es parcialmente reciclada mediante la cecotrofia, un mecanismo fisiológico que consiste en la ingestión de parte del contenido cecal en formas de cecotrofos o heces blandas, que pasa nuevamente al estómago, abriéndose nuevas posibilidades de digestión y absorción. Hay una última fracción de proteínas que se eliminan mediante las heces, constituida por proteínas de origen alimenticio y residuos endógenos.

1.2 VALORACIÓN DEL CONTENIDO PROTEICO DE LOS ALIMENTOS

Clásicamente, el contenido proteico de los alimentos se valora como PB, calculada multiplicando el nitrógeno valorado por el método Kjeldah por el factor 6,25, lo que supone asumir que todas las proteínas contienen un 16% de N y que se incluyan también ciertos compuestos nitrogenados no proteicos. También es relativamente frecuente valorar la PB contenida en las fracciones fibrosas (FND y FAD) ya que está inversamente correlacionada con la digestibilidad de la PB del alimento.

La PB nos da una medida del nitrógeno que hay en el alimento, pero no de la utilidad que este nitrógeno tiene para el animal. Como ya se ha indicado, antes de que el alimento sea utilizable por el animal ha de ser digerido, degradado a sustancias más sencillas que puedan ser absorbidas por el animal, los aminoácidos. La PD de un alimento puede determinarse mediante ensayos de digestibilidad. En estos ensayos se obtienen cifras de digestibilidad “aparente” no “real”. Se asume que la diferencia entre la cantidad de PB ingerida y la cantidad de PB excretada con las heces representa la cantidad absorbida en forma utilizable por el organismo y que todo el nitrógeno que aparece en las heces es de origen alimenticio. Conocida la presencia en las heces de nitrógeno de origen metabólico (o nitrógeno endógeno), estas asunciones suponen no son del todo ciertas. La digestibilidad aparente de la PB es, por tanto, más baja que la real, pero como la pérdida de nitrógeno metabólico por las heces es inevitable constituye una medida bastante útil del valor proteico de un alimento. Por lo general, no se intenta determinar la digestibilidad real (que supone valorar y descontar el nitrógeno metabólico fecal) y los coeficientes que se emplean a diario son los valores aparentes.

Lógicamente, el valor proteico de un alimento depende también en gran medida de su contenido en aminoácidos esenciales, ya que son los que pueden ser limitantes de la síntesis de proteínas en el animal y, por tanto, afectar a sus funciones productivas (crecimiento, gestación, lactación, etc...) y en definitiva a su rendimiento. Se puede determinar el contenido de tales aminoácidos en el alimento, pero es más útil conocer también su digestibilidad aparente (y mejor aún su digestibilidad real). No obstante, la digestibilidad estimada como diferencia entre la ingestión y la excreción fecal no es la mejor manera de medir la cantidad de aminoácidos absorbidos por el animal en el intestino delgado, ya que la utilización de proteínas alimentarias o endógenas para sintetizar proteína microbiana supone transformar unos aminoácidos en otros, incluyendo los esenciales, ya que los microorganismos si son capaces de hacerlo. Por ello, la mejor forma de valorar el contenido dietario en aminoácidos esenciales es determinar también su digestibilidad ileal, es decir, la cantidad que se digiere entre la boca y el final del intestino delgado ya sea con valores aparentes o, mejor, con valores reales, dicho de otra forma, descontando el nitrógeno metabólico ileal.

1.3 *RATIO PD/ED EN PIENSOS PARA CONEJOS EN CRECIMIENTO*

Es muy importante aportar proteína en cantidad y calidad suficiente (la falta de uno sólo de los aminoácidos esenciales produce el mismo efecto que si faltara un aporte global de proteína), ajustándose a las necesidades de los animales en cada una de las situaciones fisiológico-productivas. En el caso de los animales en crecimiento, deben cubrirse las siguientes necesidades:

- Reposición de las pérdidas consecuentes al recambio de proteína tisular.
- Elaboración de enzimas, reposición de células epiteliales del intestino y síntesis de secreciones intestinales.
- Crecimiento del tejido magro en forma de proteína retenida.

Por otro lado, los conejos regulan la ingestión de pienso principalmente en función de su contenido en ED, de forma que la ingestión de ED coincida con sus necesidades. Así, un aumento en el nivel de ED del pienso determina una disminución de la ingestión y, por el contrario, una disminución del nivel de ED del pienso se acompaña de un aumento de su consumo, siempre con el objetivo de mantener constante la ingestión de ED. No obstante, hay un límite en la posibilidad de ajuste del consumo de ED: si el nivel de ED del pienso es demasiado bajo (<9.0-9,5 MJ ED/kg) se llega a saturar la capacidad de ingestión y no se cubren las necesidades energéticas (Gidenne *et al.*, 2010).

Si la ingestión de pienso está determinada por su contenido en ED, resulta lógico que para satisfacer las necesidades en el resto de los nutrientes su contenido aumente o disminuya en la misma proporción en que lo haga la ED, es decir, que se mantenga constante cuando se exprese no por kg de pienso sino por unidad energética. En concreto, para satisfacer las necesidades en PD de los conejos en crecimiento, se ha establecido como recomendación que la *ratio* PD/ED sea de 10,5-11,0 g/MJ (Xiccato y Trocino, 2010). Como ya se ha mencionado, también será necesario asegurar la calidad de la proteína aportada, con niveles adecuados de aminoácidos esenciales.

Si las proteínas se encuentran en proporción insuficiente con respecto a la ED, la síntesis de proteínas (muscular y otras) se verá reducida puesto que faltarán aminoácidos y en consecuencia se reducirá el crecimiento de animales o será menos magro (más proporción de grasa). Cuando la cantidad de proteína es excesiva con respecto a la ED, más de 11,5-12,0 g PD/MJ ED, el conejo ingiere un exceso de proteína con respecto a sus necesidades, por lo que aumenta la cantidad de proteína digerida en el tubo digestivo y la absorción de aminoácidos. Los aminoácidos no utilizados en la síntesis proteica son desaminados y catabolizados. A través del torrente sanguíneo, los grupos amino se transportan al hígado en forma de glutamina y alanina (el NH_4^+ es tóxico), donde se convierten en urea que se elimina a través de la orina. Además de sobrecargar la función hepática y renal, este exceso en el aporte proteico suele ser contraproducente en términos económicos y aumenta la excreción de nitrógeno al medio ambiente.

1.4 EFECTOS DE CONTENIDO PROTEICO DEL PIENSO SOBRE LA SALUD DIGESTIVA DE LOS CONEJOS EN CRECIMIENTO

Las recomendaciones habituales para optimizar el crecimiento de los conejos se sitúan en 156-177 g PB/kg MS (De Blas y Mateos, 2010). Desde hace tiempo, se sabe que elevar el contenido en PB puede aumentar el riesgo de problemas digestivos, ya que podría producir un aumento del flujo de PB hacia el ciego que favorecerían la prevalencia y proliferación de bacterias proteolíticas potencialmente patógenas, como *Clostridium* y *Escherichia coli*, particularmente al comienzo del cebo cuando la capacidad para la digestión intestinal de las proteínas parece estar menos desarrollada, lo que se asociaría a un aumento de la concentración cecal de NH_3 . (Villamide *et al.*, 2010). En los últimos 15 años, la inclusión de mayores niveles de heno de alfalfa para elevar el contenido fibroso y reducir el riesgo de Enteropatía Epizoótica del Conejo (ECC) ha supuesto que los niveles de PB tiendan a estar cerca del máximo recomendado (Carabaño *et al.*, 2009) o que incluso lo superen y se han realizado distintos estudios para conocer mejor y tratar de ajustar más las necesidades proteicas de los conejos en crecimiento, considerando particularmente los efectos sobre la salud digestiva tanto del nivel y como de la fuente de proteína, así como del aporte de algunos aminoácidos.

Chamorro *et al.* (2007) con dietas con 176 y 207 g PB/kg MS observaron que reducir el contenido proteico disminuyó la mortalidad por EEC, tanto en el postdestete como en el conjunto del cebo, tanto sin antibióticos (21% vs. 33% y 22% vs. 33%, respectivamente) como con antibióticos (1.3% vs. 7.7% y 2.6% vs. 9.6%, respectivamente), que se acompañó de menor flujo ileal de PB (-17%) y menor frecuencia de detección de *Clostridium perfringens* en la digesta ileal (28% vs. 83% y 4% vs. 11% sin y con antibióticos, respectivamente). En un estudio a gran escala en condiciones de campo, Gidenne *et al.* (2013) compararon dietas con 157 y 202 g PB/kg MS y también observaron que la reducción del contenido proteico disminuyó la mortalidad (7% vs. 12%) aunque este cambio no afectó a la concentración de AGV totales o de NH_3 ni al pH del ciego.

Xiccato *et al.* (2011) también observaron que la reducción del contenido proteico (169 vs. 182 g PB/kg MS) redujo la mortalidad durante el cebo (3% vs. 17%), con reducción de la concentración de AGV totales (-14%) pero sin cambios en la de NH₃ ni en el pH del ciego.

En un estudio a gran escala con piensos peridestete de 145 y 175 g PB/kg MS ofrecidos desde los 17 a los 49 días en alimentación conjunta de camadas y conejas hasta el destete, Martínez-Vallespín *et al.* (2011) también observaron que la reducción del contenido proteico disminuyó la mortalidad por EEC entre los 28 y los 49 días (41% vs. 61%), así como el flujo ileal de PB (-18%) y la concentración de AGV totales (-24%) y de NH₃ (-24%) en el ciego, con aumento de su pH (Martínez-Vallespín *et al.*, 2013).

Sin embargo, Xiccato *et al.* (2004) no detectaron diferencias en mortalidad por EEC durante el cebo al comparar dietas con 177 y 188 g PB/kg MS, con un valor medio de 20%. Trocino *et al.* (2013) no observaron diferencias de mortalidad al comparar dietas con 156 y 193 g PB/kg MS en un estudio donde la mortalidad media fue baja (6%). García-Palomares *et al.* (2006) no pudieron comprobar el efecto favorable de reducir el contenido proteico (154 vs. 175 g PB/kg MS) porque no se registró mortalidad durante el estudio.

Gutiérrez *et al.* (2003) compararon dietas isoproteicas con fuentes de proteína de diferente digestibilidad ileal y observaron que la mortalidad fue menor con torta de girasol, concentrado proteico de soja y torta de soja que con torta de soja+concentrado proteico de patata, tanto en el postdestete (14% vs. 24%) como en el conjunto del cebo (17% vs. 35%), mientras el flujo ileal de PB y la concentración cecal de NH₃ fueron menores (-21% y -26%, respectivamente) y sin que hubiera cambios en el pH del ciego. García-Ruiz *et al.* (2006) compararon dietas de similar contenido en PB con las dos fuentes de proteína más habituales, registrando menor mortalidad con torta de girasol que con torta de soja (4% vs. 11%), que se acompañó de una reducción del flujo ileal de PB (-9%). Trocino *et al.* (2010) también observaron que la mortalidad tendió a ser menor con torta de girasol que con torta de soja (1.1% vs. 5.6%), sin detectar cambios en la concentración de AGV totales o de NH₃ ni en el pH del ciego.

Por otro lado, con la reducción de los niveles de PB para disminuir el riesgo de problemas digestivos puede llegarse a no satisfacer las necesidades para mantener un adecuado crecimiento corporal y del tracto gastrointestinal, así como para mantener la función de barrera de la mucosa intestinal, que podrían ser más altas en conejos de 3-5 semanas de vida que en el resto del cebo (Carabaño *et al.*, 2009). Conseguir reducir el nivel de PB sin detrimento del desarrollo de los animales permitiría además reducir la excreción de nitrógeno y su impacto medioambiental. En la práctica, todo ello requiere mejor conocimiento de las necesidades en aminoácidos de los gazapos en crecimiento. En esa línea, Chamorro *et al.* (2010) han observado que la suplementación con glutamina reduce la mortalidad por EEC tanto en los 2 semanas siguientes al destete (8% vs. 19%) como en el conjunto del cebo (20% vs. 32%), disminuyendo la frecuencia de detección de *Clostridium* spp en el íleon (33% vs. 87%) y de *Helicobacter* spp en el íleon (33% vs. 87%) y en el ciego (47% vs. 87%); la suplementación adicional con arginina no modificó los resultados. Asimismo, Castillo (2013) ha observado que la suplementación con treonina, particularmente abundante en la fracción proteica de las mucinas, tendió a reducir la mortalidad (7% vs. 11%).

1.5 APOORTE PROTEICO EN CONEJOS SELECCIONADOS POR VELOCIDAD DE CRECIMIENTO

Los programas de mejora genética tienen como objetivo desarrollar líneas más productivas a través de la selección. La decisión de elegir un carácter como objetivo de selección se toma en base a su importancia económica, su determinación genética y las consecuencias de la

selección sobre el proceso productivo en conjunto. Los principales ingresos de las granjas comerciales son las ventas de animales para matadero. Así pues, el objetivo principal de la granja comercial será producir el mayor número de conejos con el menor coste posible.

La mejora genética llevada a cabo en los núcleos de selección sigue lo que se conoce como un esquema de cruzamiento a tres vías. Este exige la utilización de dos líneas maternas y una línea paterna (*Figura 1*).

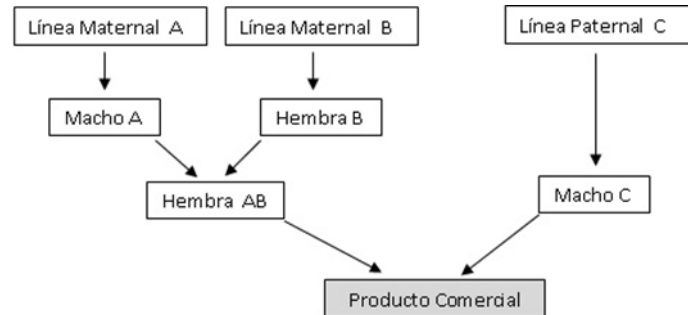


Figura 1. Esquema de la producción cunícola intensiva. Fuente: Elaboración propia.

El cruzamiento no es un método de selección en sí, pero permite aprovechar la variabilidad existente entre razas o líneas, para aumentar la capacidad productiva de los animales en un ambiente dado. Los dos fenómenos que se presentan en los animales cruzados son la heterosis (vigor híbrido) y la complementariedad (combinar las mejores características de cada línea). Se realizan dos cruzamientos para producir el gazapo de engorde, el primero entre dos líneas maternas para la producción de la hembra cruzada y, en el segundo, estas hembras cruzadas se montan o inseminan con machos de una línea paterna para obtener el gazapo de engorde.

En la Universidad Politécnica de Valencia se ha generado una línea paterna, la línea R, seleccionada desde su fundación (en 1984) por selección individual con el criterio de la ganancia diaria entre el destete (28 días) y la fecha de sacrificio (63 días) (Estany *et al.*, 1992) con el objetivo de mejorar indirectamente el índice de conversión, que es el carácter más importante desde el punto de vista económico (Baselga y Blasco, 1989). Estos animales presentan como principales características un crecimiento mayor que el promedio de la especie cunícola (50-55 g/d durante el período de cebo) y un mayor peso adulto, pero también presentan una serie de peculiaridades reproductivas (inicio reproductivo tardío, menor deseo sexual, producción espermática baja, etc.) probablemente como consecuencia de la selección.

En el contexto de reducción del contenido en PB de los piensos para reducir el riesgo de EEC ya mencionado, existían indicios de que el aporte de proteína y aminoácidos podía ser insuficiente y estar limitando el crecimiento magro de los animales de la línea R, impidiendo que lleguen a expresar todo su potencial genético (Marín-García *et al.*, 2016a y 2016b). Así, por ejemplo, Marín-García *et al.* (2018) han observado que el contenido de aminoácidos azufrados (metionina+cistina) en los piensos destinados a estos animales debería ser superior a la recomendación actual (De Blas y Mateos, 2010).

2 OBJETIVOS

Una vez conocido el hecho de que el perfil de aminoácidos esenciales en la proteína dietaría para los animales seleccionados por velocidad de crecimiento debería ser distinto del habitualmente recomendado, con más aminoácidos azufrados (y menos treonina), es decir, una vez mejorada la calidad de la proteína dietaría, se planteó la hipótesis de que estos animales pudieran aumentar su crecimiento como respuesta a una mayor ingestión de tal proteína. En principio, para conseguir aumentar la ingestión de proteína es suficiente utilizar piensos con una *ratio* PD/ED mayor de la habitualmente recomendada. Así, uno de los objetivos del proyecto “Mejora genética del conejo de carne: nuevas estrategias para mejorar la respuesta genética, la eficiencia alimentaria, reproducción y salud de líneas paternas” (AGL2017-85162-C2-1-R-AR) es comprobar si el empleo de piensos con proteína equilibrada en cuanto a su contenido en aminoácidos esenciales, pero con una *ratio* PD/ED mayor de la habitualmente recomendada mejora el crecimiento y la retención proteica en animales de líneas paternas, sin alterar el ambiente cecal, relacionado con el mantenimiento de la salud digestiva.

El presente trabajo se enmarca en el mencionado proyecto y sus objetivos específicos fueron:

- Verificar la *ratio* PD/ED de dos piensos para conejos en crecimiento.
- Comprobar los posibles efectos de esta variación dietaría sobre el ambiente cecal.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

A continuación, se va a describir todos los elementos utilizados durante el experimento, que son:

- Instalaciones
- Piensos experimentales
- Animales
- Preparación de muestras y análisis químicos
- Cálculos y análisis estadístico

3.1 INSTALACIONES

El presente trabajo ha sido realizado principalmente en dos áreas: en la granja de conejos y en el laboratorio de Alimentación Animal del Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV).

La granja está localizada en el ala norte de la UPV (*Figura 2*). La dirección del eje longitudinal de la granja es norte-sur, aprovechando de esta manera la energía solar en los meses más fríos.



Figura 2. Localización de la granja. Fuente: Google Maps.

La instalación dispone de una nave de engorde (*Figura 3*) con iluminación artificial durante 12 horas al día, activándose y desactivándose automáticamente entre las 6.00h y las 18.00h. Incluye ventilación forzada lateral, estando situados los ventiladores a un metro de altura y con una separación entre ellos de 2 metros. La refrigeración es llevada a cabo por un sistema *cooling*. Los animales se alojan en dos baterías de jaulas individuales para digestibilidad (50 plazas en total) según el sistema *flat-deck* (sobre patas, en un sólo piso y con apertura superior), siendo las dimensiones de las jaulas de 29 x 50 x 32 cm con planchas laterales de acero inoxidable y techo y suelo de malla metálica galvanizada. Estas jaulas llevan acopladas

un comedero tipo tolva con una capacidad aproximada de 800 g y un bebedero automático de tipo cazoleta.



Figura 3. Detalle de la nave de engorde por dentro. Fuente: Elaboración propia.

Para recoger las heces durante el ensayo de digestibilidad, se acopla a la base de cada jaula un dispositivo de acero inoxidable con forma de pirámide cuadrangular invertida, en cuyo interior se sitúa una rejilla metálica que retiene las heces y deja pasar la orina, que se recoge en una cubeta de plástico (Figuras 4, 5 y 6).



Figura 4. Jaula de digestibilidad. Fuente: Elaboración propia.



Figura 5. Dispositivo para colecta de heces y cubeta para recoger la orina. Fuente: Elaboración propia.



Figura 6. Detalle de la rejilla para retener las heces. Fuente: Elaboración propia.

3.2 PIENSOS EXPERIMENTALES

Para abordar los objetivos del presente trabajo se formularon y fabricaron dos piensos experimentales. El pienso B se formuló para tener la *ratio* PD/ED habitualmente recomendada en los piensos para conejos de engorde (Xiccatto y Tocino, 2010), que es de 10,5-11,0 g/MJ). El pienso A se formuló para tener una *ratio* PD/ED más alta, de 12,0 g/MJ, sustituyendo la harina de soja 44 por concentrado proteico de soja (Soycomil P), con lo que se consigue aumentar tanto el contenido en PB como su digestibilidad. Para que dicho cambio no tuviera efecto

sobre el perfil fibroso se ajustó con un concentrado fibroso (Arbocel) hasta obtener piensos isofibrosos. En la *Tabla 1* se muestra su composición en ingredientes y en la *Tabla 2* su composición nutricional teórica según las tablas FEDNA (2010).

Tabla 1. Ingredientes de los piensos experimentales

INGREDIENTES (%)	Pienso B	Pienso A
CEBADA	18,0	18,0
TRIGO	10,8	9,0
SALVADO TRIGO	28,0	28,0
HARINA SOJA 44	4,6	0,0
CONCENTRADO PROTEICO SOJA (Soycomil P)	1,6	7,7
L-LISINA HCL	0,130	0,141
DL METIONINA	0,152	0,197
L-TREONINA	0,019	0,047
HENO ALFALFA	26,0	24,1
CONCENTRADO FIBRAS (Arbocel)	7,5	9,6
ACEITE SOJA	1,0	1,0
CARBONATO CÁLCICO	0,373	0,479
FOSFATO BICÁLCICO	0,694	0,652
CLORURO SÓDICO	0,273	0,283
BICARBONATO SÓDICO	0,281	0,267
CORRECTOR VITAMINAS-OLIGOELEMENTOS	0,500	0,500

Tabla 2. Composición teórica de los piensos experimentales según tablas FEDNA (2010)

g/kg MS	Pienso B	Pienso A
ED (MJ/kg MS)	11,10	11,10
PB	163	178
PD	117	133
PD/ED (g/MJ)	10,5	12,0
Lisina	8,1	9,3
Metionina	3,9	4,6
Aminoácidos azufrados	6,6	7,5
Treonina	6,0	6,9
Triptófano	2,2	2,4
Isoleucina	6,0	6,8
Valina	7,6	8,5
Arginina	9,2	10,7
FND	384	390
FAD	220	228
LAD	61	63
Hemicelulosas	164	162
Celulosa	159	165
Almidón	242	230
EE	34	33
Ca	8,5	8,5
P	6,5	6,5
Na	2,5	2,5
Cl	3,5	3,5

3.3 ANIMALES

Todos los procedimientos de experimentación fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Politécnica de Valencia, dentro de las actividades planeadas para la ejecución del proyecto “Mejora genética del conejo de carne: nuevas estrategias para mejorar la respuesta genética, la eficiencia alimentaria, reproducción y salud de líneas paternas”, financiado por del Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2017-85162-C2-1-R-AR).

Se utilizaron en total 102 gazapos destetados (28 días de vida) de la línea R de la Universidad Politécnica de Valencia, seleccionada por ganancia media diaria entre destete y sacrificio. Los gazapos procedían de conejas alojadas en la nave de maternidad y cada camada se distribuyó equilibradamente entre los dos tratamientos dietarios. Los gazapos se alojaron en jaulas individuales alternando los tratamientos (pienso B en jaulas pares, pienso A en jaulas impares) y tuvieron libre acceso al pienso correspondiente y al agua durante todo el experimento. Se utilizaron 48 animales para ensayos de digestibilidad (26 en el primer ensayo, 13/pienso; 22 en el segundo ensayo, 11/pienso) y 54 animales para valorar el ambiente cecal (27/pienso), distribuidos en tres lotes (de 24, 22 y 8 animales cada uno).

3.3.1 Ensayos de digestibilidad

Para valorar el contenido en ED y PD se realizaron ensayos de digestibilidad según el método de referencia europeo (Perez *et al.*, 1995). Como los animales ya consumían el pienso correspondiente desde los 28 días de vida (destete) no fue necesario un periodo de adaptación y se utilizaron animales que no hubieran presentado signos de enfermedad hasta el comienzo del ensayo de digestibilidad, que transcurrió entre los 49 y los 53 días de vida. Durante el ensayo de digestibilidad se controló:

- La ingestión de pienso.
- La excreción de heces, que se recogieron diariamente (por la mañana), acumulándose en bolsas de plástico identificadas que se conservaron a -40 °C.
- El peso de cada animal al comienzo y fin del ensayo.
- El estado sanitario, observando a los animales diariamente y anotando las incidencias que podrían afectar a los resultados.

3.3.2 Ambiente cecal

Se utilizaron animales de 42 días de vida que no hubieran presentado signos de enfermedad desde el destete, que se sacrificaron entre las 20:00h y las 22:00 horas mediante inyección intracardiaca de una sobredosis de tiopental sódico (75 mg/kg de peso). A continuación, se extrajo el ciego, se recogió el contenido cecal en un bote de plástico y se midió su pH (pHmetro GLP21, Crison, Barcelona, España). Por último, se tomaron muestras de contenido cecal para análisis de AGV (1 g en 2 mL de H₃PO₄ 0.35 M) y de NH₃ (1 g en 3 mL de H₂SO₄ 0,35 M), que se conservaron a -20 °C. El bote con el resto del contenido no utilizado para la determinación de AGV y NH₃ también se conservó a -20 °C, para análisis de MS.

3.4 PREPARACIÓN DE MUESTRAS Y ANÁLISIS QUÍMICOS

3.4.1 Preparación de muestras de piensos y heces

Las heces que se habían almacenado a -40 °C en la propia granja en bolsas de plástico identificadas (*Figura 7*) se secaron en estufa a 100 °C durante 24 horas y se pesaron después de retirar los gránulos de pienso que pudieran contener (que se pesaron para corregir la ingestión de MS). Una vez secas, las heces se molieron en un molino C&N (*Figuras 8, 9 y 10*),

con una criba de 2 mm, tras lo cual se homogeneizaron. A continuación, se constituyó un pool de heces por cada uno de los piensos utilizados, formado con 50 g de heces de cada uno de los animales que lo habían consumido, que se homogeneizó y del que se extrajo una muestra que se molió con un molino CYCLOTEC 1093 Sample (Figuras 11, 12 y 13), que posteriormente se analizó en el laboratorio.

Las muestras de piensos se molieron directamente con el molino CYCLOTEC 1093 Sample y ya quedaron listas para su análisis en el laboratorio.



Figura 7. Bolsas de heces. Fuente: Elaboración propia.



Figura 8. Molino C&N. Fuente: Elaboración propia.



Figura 9. Detalle de los martillos del molino C&N. Fuente: Elaboración propia.



Figura 10. Detalle de la criba del molino C&N. Fuente: Elaboración propia.



Figura 11. Molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.



Figura 12. Detalle de los martillos del molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.



Figura 13. Detalle de criba del molino CYCLOTEC 1093 Sample. Fuente: Elaboración propia.

3.4.2 Análisis químico

Las muestras de piensos y de heces se analizaron siguiendo los procedimientos de AOAC (2002) para determinar MS (934.01) y PB (990.03, método Dumas, CN628 Elemental Analyzer, LECO, St. Joseph, EEUU). En estas muestras, la EB se determinó con una bomba calorimétrica adiabática (Gallenkamp Autobomb, Loughborough, RU). En las muestras de piensos también se determinaron FND, FAD y LAD de forma secuencial según Van Soest *et al.* (1991), con un pretratamiento con α -amilasa termostable y utilizando un sistema de bolsitas de nylon (Ankom, Macedon, EEUU).

En las muestras de contenido cecal, descongeladas a temperatura ambiente, se determinó MS tal como se ha descrito para piensos y heces en el párrafo anterior.

La determinación de AGV se realizó por cromatografía de gases de columna capilar según el procedimiento de Jouany (1982), por lo que las muestras descongeladas a temperatura ambiente se filtraron previamente con una jeringa de celulosa con tamaño de poro de 0,45 μm , añadiendo 0,1 mL de una solución interna estándar (0,4 g de ácido 4-metil valérico diluidos en 100 ml de agua desionizada) a 0,9 mL de la solución filtrada. De esa nueva solución se tomó 1 μL y se inyectó en un cromatógrafo de gases (Fisons 8000 series, Milan, Italia), equipado con un inyector divisor de flujo (split/splitless) y un detector FID. La separación de los AGV se realizó con una columna capilar DB-FFAP (30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μm de grosor de película; J&W Scientific, Folsom, EEUU). El gas portador (carrier) era N_2 a una presión constante de 120 kPa. Las temperaturas del detector y el inyector se ajustaron a 245 $^{\circ}\text{C}$ y 150 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente. La temperatura inicial del horno era de 110 $^{\circ}\text{C}$, la cual se mantuvo durante 5 minutos para incrementarla seguidamente hasta 230 $^{\circ}\text{C}$ a un ritmo de 8,5 $^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$, manteniendo esta última temperatura durante 10 minutos. Los AGV se identificaron comparando sus tiempos de retención con un patrón 46975-U (Supelco[®], Bellafonte, EEUU). Los factores de respuesta de los AGV obtenidos a partir del patrón se utilizaron, finalmente, para calcular la concentración de AGV de las muestras.

La determinación de la concentración de NH_3 se realizó según el procedimiento 984.13 de AOAC (2002). Una vez descongelada la muestra a temperatura ambiente, se pasaba a un tubo

de destilación de vidrio de 250 mL, lavando repetidamente el tubo que la contenía con agua destilada (50 mL, aproximadamente) que también se recogía en un tubo de destilación, hasta que estuviera limpio el tubo donde se encontraba la muestra. A continuación, el tubo de destilación con la muestra diluida se colocaba en el destilador Kjelttec 2300 (Foss, Suecia), se bajaba la compuerta de protección, se producía la descarga de tetraborato sódico para liberar el NH₃ y comenzaba su destilación por vapor. El NH₃ destilado era recogido sobre una solución de ácido bórico y neutralizado con HCl 0,01 N, cuyo gasto permite calcular la cantidad de NH₃ que contenía la muestra.

Las concentraciones de AGV y NH₃ se expresaron en mmol/L de la fase líquida del contenido cecal.

3.5 CÁLCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó la digestibilidad de la MS en cada animal, mediante la expresión:

$$dMS = [(iMS - eMS) / iMS] \times 100$$

donde: dMS (%) = digestibilidad de la MS

iMS = Ingestión de MS

eMS = Excreción fecal de MS

A partir de la dMS media obtenida para cada pienso, se calculó la digestibilidad de la EB y de la PB para cada pienso, mediante las expresiones:

$$dEB = [100 \times EBp - (100 - dMS) \times EBh] / EBp$$

$$dPB = [100 \times PBp - (100 - dMS) \times PBh] / PBp$$

donde: dEB (%) = digestibilidad de la EB

EBp = EB del pienso

EBh = EB del pool de heces correspondiente

dPB (%) = digestibilidad de la PB

PBp = PB del pienso

PBh = PB del pool de heces correspondiente

Las variables medidas para valorar el ambiente cecal se analizaron con el procedimiento GLM de SAS (2009), con un modelo que incluyó el pienso, el lote y la interacción pienso*lote como factores fijos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 VERIFICACIÓN DE LA *RATIO* PD/ED

4.1.1 Composición de los piensos iniciales

En la *Tabla 3* se puede observar la composición analíticamente determinada de los piensos inicialmente formulados y fabricados, descritos en el apartado 3.2.

Tabla 3. Composición de los piensos iniciales

g/kg MS	Pienso B	Pienso A
MS (g/kg)	901	906
PB	164	180
FND	367	369
FAD	191	197
LAD	37	40
Hemicelulosas	176	172
Celulosa	154	157
EB (MJ/kg MS)	18,4	18,4

Si se compara con la *Tabla 2*, se puede observar que el contenido en PB fue muy similar al previsto, mayor en el pienso A que en pienso B. En el caso de las distintas fracciones fibrosas, las diferencias con los valores teóricos fueron poco relevantes, confirmándose además que los piensos eran esencialmente isofibrosos.

Debe tenerse en cuenta que la composición recogida en las tablas FEDNA (2010) es la media de un gran número de partidas del ingrediente en cuestión (elaborada con la información proporcionada por proveedores, fabricantes de pienso y centros de investigación) y que lógicamente hay variabilidad entre ellas. Esta variabilidad es mayor en el caso de las fracciones fibrosas, principalmente por la gran influencia de algunos factores sobre el contenido fibroso de los forrajes como el heno de alfalfa (momento de corte, condiciones durante la henificación) o de los subproductos como el salvado de trigo (procesado del trigo), aunque también por la dificultad de estandarización de los métodos analíticos y las diferencias tanto intra como entre laboratorios (Gidenne *et al.*, 2001).

4.1.2 Digestibilidad de los piensos iniciales

En la *Tabla 4* se muestra la digestibilidad de los piensos iniciales. La dMS fue muy similar en ambos piensos. Como, además, el contenido en PB era mayor en el pienso A que en pienso B, pero el de las heces fue muy similar con ambos piensos, se observó una mayor dPB y un mayor contenido en PD en el pienso A que en pienso B, tal como se quería conseguir, aunque los valores de PD obtenidos están 3 g/kg de MS por debajo de los teóricos en ambos piensos (ver *Tabla 2*). Por otra parte, los piensos resultaron isoenergéticos, con un contenido en ED muy similar y cercano al previsto (ver *Tabla 2*). Como resultado de todo ello, el pienso A presentó mayor *ratio* PD/ED que el pienso B, como se esperaba, aunque con valores ligeramente por debajo en ambos piensos (*Tabla 5*).

Tabla 4. Digestibilidad de los piensos iniciales

	Pienso B	Pienso A
dMS¹ (%)	60,4 ± 0,5	60,2 ± 0,4
PB heces (g/kg MS)	125	124
EB heces (MJ/kg MS)	18,5	18,2
dPB (%)	69,8	72,6
dEB (%)	60,3	60,6
PD (g/kg MS)	114	131
ED (MJ/kg MS)	11,1	11,2
PD/ED (g/MJ)	10,3	11,7
¹ Media ± error estándar		

Tabla 5. Comparación de las ratios PD/ED teóricas y observadas de los piensos iniciales

g/MJ	Pienso B	Pienso A
Teórica	10,5	12,0
Observada	10,3	11,7

Aunque los valores obtenidos se acercaron mucho a los previstos, se decidió tratar de ajustarlos aún más, tratando de aumentar el contenido en PD de ambos piensos en 3 g/kg de MS. En las tablas FEDNA (2010), el contenido en PD para el heno de alfalfa y el concentrado proteico de soja es, respectivamente, de 100 y 640 g/kg MS, así que el cambio perseguido se puede conseguir corrigiendo las fórmulas iniciales ligeramente, sustituyendo en ambas 0,6% de heno de alfalfa (que pasó de 26,0% a 25,4% en el pienso B y de 24,1% a 23,5% en el pienso A) por 0,6% de concentrado proteico de soja (que pasó de 1,6% a 2,2% en el pienso B y de 7,7% a 8,3% en el pienso A), sin alterar la proporción del resto de los ingredientes.

4.1.3 Composición de los piensos corregidos

En la *Tabla 6* se muestra la composición de los piensos corregidos. En comparación con los piensos iniciales (*Tabla 3*), el contenido en PB aumentó en la medida de lo esperado por la corrección realizada, ya que según las tablas FEDNA (2010) el contenido en PB para el heno de alfalfa y el concentrado proteico de soja es, respectivamente, de 166 y 703 g/kg MS. Sin embargo, el contenido fibroso disminuyó ligeramente algo más de lo previsible, aunque se emplearon las mismas partidas de ingredientes, probablemente por los errores asociados a la fabricación del pienso, al muestreo y a la mencionada variabilidad intralaboratorio en el análisis de las fracciones fibrosas; no obstante, siguieron siendo esencialmente isofibrosos. Un razonamiento similar cabría para los ligeros cambios observados en el contenido de EB.

Tabla 6. Composición de los piensos corregidos

g/kg MS	Pienso B	Pienso A
MS (g/kg)	906	907
PB	168	186
FND	345	352
FAD	181	189
LAD	36	38
Hemicelulosas	164	163
Celulosa	145	151
EB (MJ/kg MS)	18,3	18,5

4.1.4 Digestibilidad de los piensos corregidos

En la *Tabla 7* se puede observar la digestibilidad de los piensos corregidos. En comparación con los piensos iniciales (*Tabla 4*), la dMS fue muy similar. El contenido en PB de las heces fue menor y dio lugar a un aumento de la dPB y a un contenido en PD algo mayores de lo previsto (2,4 en lugar de 0,4 puntos porcentuales y 8 en lugar de 3 g/kg MS, respectivamente). Por otro lado, la dEB y el contenido en ED fueron ligeramente menores que en los piensos iniciales. Con todo ello, la *ratio* PD/ED de los piensos corregidos aumentó más de lo esperado, aunque las diferencias entre ambos piensos se mantuvieron (*Tabla 8*). Estos resultados serían fruto del error asociado a las distintas fases del experimento (fabricación de los piensos, toma de muestras de los piensos, ensayos de digestibilidad, constitución y toma de muestras de los pooles de heces, análisis de PB y EB).

Tabla 7. Digestibilidad de los piensos corregidos

	Pienso B	Pienso A
dMS ¹ (%)	60,9 ± 0,4	60,1 ± 0,4
PB heces (g/kg MS)	118	118
EB heces (MJ/kg MS)	18,9	19,0
dPB (%)	72,6	74,6
dEB (%)	59,7	59,1
PD (g/kg MS)	122	139
ED (MJ/kg MS)	10,9	10,9
PD/ED (g/MJ)	11,2	12,6
¹ Media ± error estándar		

Tabla 8. Comparación de las ratios PD/ED teóricas y observadas de los piensos corregidos

g/MJ	Pienso B	Pienso A
Teórica	10,5	12,0
Observada	11,2	12,6

4.2 AMBIENTE CECAL

La *Tabla 9* muestra los resultados obtenidos en las distintas variables que conforman el ambiente cecal. No se observaron diferencias relevantes en ninguna de ellas, lo que confirma la hipótesis inicial. Se sabe que la cantidad y la digestibilidad de la PB del pienso determina el flujo ileal de PB y, por tanto, pueden afectar al ambiente cecal (Gutiérrez *et al.*, 2003; Xiccato *et al.*, 2011; Martínez-Vallespín *et al.*, 2013). En el presente estudio, el aumento del contenido en PB se produjo sustituyendo la harina de soja 44 por concentrado proteico de soja, que según las tablas FEDNA (2010) es más digestible a nivel fecal (dPB de 84% y 91% respectivamente), como demuestra la mayor dPB del pienso A con respecto al pienso B. No se dispone de datos sobre la digestibilidad ileal de la PB de la harina de soja 44 y el concentrado proteico de soja en conejos, pero es muy probable que también sea mayor en el concentrado proteico de soja. Gutiérrez *et al.* (2003) observaron un aumento de la digestibilidad ileal de la PB y un descenso del flujo ileal de PB al sustituir harina de soja 48 por el mismo concentrado proteico de soja utilizado en el presente estudio (Soycomil P). En consecuencia, puede suponerse que no hubo diferencias relevantes en el flujo ileal de PB entre los piensos B y A, lo que explicaría la falta de efecto sobre el ambiente cecal.

*Tabla 9. Efecto del pienso sobre el ambiente cecal
(medias ajustadas por mínimos cuadrados \pm error estándar)*

			P		
			Pienso	Lote	Pienso*Lote
	Pienso B	Pienso A			
Peso animal (g)	1248 \pm 45	1361 \pm 41	0,070	0,022	0,731
pH	5,81 \pm 0,05	5,81 \pm 0,05	0,955	0,086	0,707
MS (g/kg)	223 \pm 3	220 \pm 3	0,482	0,537	0,399
AGV (mmol/L)	87,2 \pm 3,5	94,6 \pm 3,5	0,137	0,483	0,266
Acético (%)	85,1 \pm 0,5	85,5 \pm 0,5	0,553	0,169	0,603
Propiónico (%)	4,91 \pm 0,69	5,61 \pm 0,68	0,473	0,348	0,923
Butírico (%)	8,58 \pm 0,76	7,74 \pm 0,75	0,435	0,784	0,732
Isobutírico (%)	0,04 \pm 0,01	0,04 \pm 0,01	0,984	0,153	0,521
Valérico (%)	0,31 \pm 0,02	0,29 \pm 0,03	0,508	0,783	0,092
Isovalérico (%)	0,04 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01	0,556	0,069	0,190
Caproico (%)	0,92 \pm 0,10	0,67 \pm 0,10	0,072	0,990	0,605
Heptanoico (%)	0,05 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01	0,765	0,588	0,577
NH₃ (mmol/L)	11,9 \pm 2,2	14,4 \pm 1,4	0,358	0,046	0,056

5 CONCLUSIONES

Como resultado de la sustitución de harina de soja 44 por concentrado proteico de soja, se aumentó la *ratio* PD/ED del pienso, aunque los valores obtenidos (10,3 y 11,7 g/MJ, para el pienso B y el pienso A, respectivamente) estuvieron ligeramente por debajo de los valores previstos cuando se formularon los piensos con las tablas de composición y valor nutritivo de los alimentos habitualmente utilizadas en España (10,5 y 12,0 g/MJ, para el pienso B y el pienso A, respectivamente).

Para tratar de ajustarlas aún más, las fórmulas iniciales se corrigieron ligeramente, sustituyendo en ambas 0,6% de heno de alfalfa por 0,6% de concentrado proteico de soja, sin alterar la proporción del resto de los ingredientes. Sin embargo, la *ratio* PD/ED de los piensos corregidos aumentó más de lo esperado, aunque las diferencias entre ambos piensos se mantuvieron (11,2 y 12,6 g/MJ, para el pienso B y el pienso A, respectivamente). Estos resultados serían fruto del error asociado a las distintas fases del experimento (fabricación de los piensos, toma de muestras de los piensos, ensayos de digestibilidad, constitución y toma de muestras de los pooles de heces, análisis de PB y EB).

Por otro lado, el pienso no afectó a ninguna de las variables que conforman el ambiente cecal (MS, pH, AGV y NH₃), confirmándose la hipótesis inicial.

6 BIBLIOGRAFÍA

- AOAC 2002. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg (USA).
- Baselga M., Blasco A. 1989. Mejora genética del conejo de producción de carne. MundiPrensa, Madrid, 110 pp.
- Carabaño R., Villamide M.J., García J., Nicodemus N., Llorente A., Chamorro S., Menoyo D., García-Rebollar P., García-Ruiz A.I., De Blas C. 2009. New concepts and objectives for protein-amino acid nutrition in rabbits: a review. *World Rabbit Science*, 17: 1-14.
- Castillo C.A. 2013. Effect of dietary soluble fibre and threonine on digestion and growth performance in post-weaning rabbits. Tesis de Máster, Universidad de Zaragoza, 57 pp.
- Chamorro S., Gómez-Conde M.S., Pérez de Rozas A.M., Badiola I., Carabaño R., De Blas C. 2007. Effect on digestion and performance of dietary protein content and of increased substitution of lucerne hay with soya-bean protein concentrate in starter diets for young rabbits. *Animal* 1, 651-659.
- Chamorro S., De Blas C., Grant G., Badiola I., Menoyo D., Carabaño R. 2010. Effect of dietary supplementation with glutamine and a combination of glutamine-arginine on intestinal health in twenty-five-day-old weaned rabbits. *Journal of Animal Science* 88, 170-180.
- De Blas C., Mateos G.G. 2010. Feed formulation. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (UK), pp. 222-232.
- Estany J., Camacho J., Baselga M., Blasco A. 1992. Selection response of growth rate in rabbits for meat production. *Genetics Selection Evolution* 24, 527-537.
- FEDNA. 2010. Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos compuestos, 3ª ed., De Blas C., Mateos G.G., García-Rebollar P. (coord.). FEDNA, Madrid.
- García-Palomares J., Carabaño R., García-Rebollar P., De Blas C., Corujo A., García-Ruiz A.I. 2006. Effects of a dietary protein reduction and enzyme supplementation on growth performance in the fattening period. *World Rabbit Science* 14, 231-236.
- García-Ruiz A.I., García-Palomares J., García-Rebollar P., Chamorro S., Carabaño R., Blas C. 2006. Effect of protein source and enzyme supplementation on ileal protein digestibility and fattening performance in rabbits. *Spanish Journal of Agriculture Research* 4: 297-303.
- Gidenne T., Perez J.M., Xiccato G., Trocino A., Carabaño R., Villamide M.J., Blas E., Cervera C., Falcao e Cunha L., Maertens L. 2001. Attempts to harmonize chemical analyses of feeds and faeces for rabbit feed evaluation (technical note). *World Rabbit Science* 9, 57-64.
- Gidenne T., Lebas F., Fortun-Lamothe L. 2010. Feeding behaviour of rabbits. En: De Blas C., Wiseman J., (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (UK), pp. 233-252.
- Gidenne T., Kerdiles V., Jehl N., Arveux P., Eckenfelder B., Briens C., Stephan S., Fortune H., Montessuy S., Muraz G. 2013. Protein replacement by digestible fibre in the diet of growing rabbits. 2: impact on performances, digestive health and nitrogen output. *Animal Feed Science and Technology* 183, 142–150.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas C. 2003. Effect of protein source on digestion and growth performance of early-weaned rabbits. *Animal Research* 52, 461-471.

- Jouany J.P. 1982. Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial cultures and anaerobic fermentor contents. *Sciences des Aliments* 2, 131-144.
- Marín-García P.J., Blas E., Cervera C., Pascual J.J. 2016a. A deficient protein supply could be affecting selection for growth rate in rabbits. 67 th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. Belfast, UK, 1, 489.
- Marín-García P.J., Blas E., Cervera C., Pascual J.J. 2016b. Are growing diets providing enough protein to high growth rate rabbits?. World Rabbit Congress. Quingdao, China, 1, 435-438.
- Marín-García P.J., López M.C., Ródenas L., Martínez-Paredes E., Blas E., Pascual J.J. 2018. Effect of the levels of lysine, sulphur amino acids and threonine in diets for rabbits with high growth rates. 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. Dubrovnik, Croatia, 1, 586.
- Martínez-Vallespín B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Cervera C., Pascual J.J., Blas E. 2011. Combined feeding of rabbit female and young: partial replacement of starch with acid detergent fibre or/and neutral detergent soluble fibre at two protein levels. *Livestock Science* 141, 155–165.
- Martínez-Vallespín B., Martínez-Paredes E., Ródenas L., Moya V.J., Cervera C., Pascual J.J., Blas E. 2013. Partial replacement of starch with acid detergent fibre and/or neutral detergent soluble fibre at two protein levels: effects on ileal apparent digestibility and caecal environment of growing rabbits. *Livestock Science* 154, 123–130.
- McDonald P., Edwards R. A., Greenhalgh J. F. D. (1986). *Nutrición Animal*. Editorial Acribia, Zaragoza, 518 pp.
- Perez J.M., Lebas F., Gidenne T., Maertens L., Xiccato G., Parigi-Bini R., Dalla Zotte A., Cossu M.E., Carazzolo A., Villamide M.J., Carabaño R., Fraga M.J., Ramos M.A., Cervera C., Blas E., Fernández-Carmona J., Falcao e Cunha L., Bengala-Freire J. 1995. European reference method for in vivo determination of diet digestibility in rabbits. *World Rabbit Science* 3, 41-43.
- SAS 2009. Release 9.2 User's guide, 2nd edition. SAS Institute Inc, Cary (USA).
- Trocino A., Fragkiadakis M., Radaelli G., Xiccato G. 2010. Effect of dietary soluble fibre level and protein source on growth, digestion, caecal activity and health of fattening rabbits. *World Rabbit Science* 18, 199-210.
- Trocino A., Fragkiadakis M., Majolini D., Tazzoli M., Radaelli G., Xiccato G. 2013. Soluble fibre, starch and protein level in diets for growing rabbits: effects on digestive efficiency and productive traits. *Animal Feed Science and Technology* 180,73–82.
- Van Soest P.J., Robertson J.R., Lewis B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science* 74, 3583-3597.
- Villamide M.J., Nicodemus N., Fraga M.J., Carabaño R. 2010. Protein digestion. En: De Blas, C., Wiseman, J. (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (UK), pp. 39-55.
- Xiccato G., Trocino A. 2010. Energy and protein metabolism and requirements. En: De Blas, C., Wiseman, J. (Eds.), *Nutrition of the Rabbit*, 2nd ed., CAB International, Wallingford (UK), pp. 83-118.
- Xiccato G., Trocino A., Carraro L., Fragkiadakis M. 2004. Digestible fibre to ADF ratio and protein concentration in diets for early-weaned rabbits. 8th World Rabbit Congress, Puebla (Méjico), 6 pp.
- Xiccato G., Trocino A., Majolini D., Fragkiadakis M., Tazzoli M. 2011. Effect of decreasing dietary protein level and replacing starch with soluble fibre on digestive physiology and performance of growing rabbits. *Animal* 5, 1179-1187.