

Utilización de nutrientes en el lechón Ibérico durante los periodos de lactancia y post-destete



MARÍA ARÁNTZAZU AGUINAGA CASAÑAS

TESIS DOCTORAL

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: María Arántzazu Aguinaga Casañas
D.L.: GR 2030-2011
ISBN: 978-84-694-1058-5

Ilustración de portada:

Fotografía tomada en la Finca de Montecastilla, perteneciente a Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A

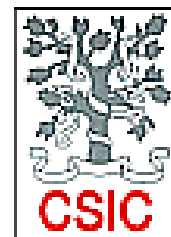
Utilización de nutrientes en el lechón Ibérico durante la lactancia y post-destete

María Arántzazu Aguinaga Casañas

Tesis Doctoral



Facultad de Ciencias
Universidad de Granada



Estación Experimental del Zaidín
Unidad de Nutrición Animal
(Granada)

Granada, 2010

La realización de la presente Tesis doctoral se ha llevado a cabo gracias a la concesión de una beca asociada al proyecto AGR-0395. El trabajo que se expone a continuación forma parte de los proyectos AGR-0395, titulado *“Estudio de la eficiencia de utilización de nutrientes y energía y de los cambios en la fisiología digestiva del lechón Ibérico durante la lactancia y el post-destete”* y AGL 2005-01652 titulado, *“Distintos aspectos de la nutrición proteica y energética del cerdo Ibérico: Necesidades de proteína y energía del lechón, necesidades energéticas de mantenimiento desde el destete al sacrificio e importancia de la absorción intestinal de aminoácidos de origen microbiano”* financiados por la Junta de Andalucía y el Ministerio de Ciencia e Innovación, respectivamente.

La dirección de esta Memoria de Tesis Doctoral la han llevado a cabo los Dres. José Fernando Aguilera Sánchez y Rosa M^a Nieto Liñán, del Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal, de la Estación Experimental del Zaidín (Granada), del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

Para su realización ha sido fundamental la inestimable colaboración de las empresas Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A. (Sevilla) y Sucesores de Miguel Vílchez Riquelme, (Granada).

Resultados preliminares de los ensayos que recoge la presente Memoria de Tesis Doctoral han sido presentados en los siguientes congresos:

Aguinaga, M.A., Conde-Aguilera, J.A., Ruiz-Guerrero, V., Navarro A.I., Aguilera, J.F. y Nieto, R. (2009). *Incorporation of lysine from microbial origin into tissue protein of Iberian and conventional (Ld x LW) piglets* .En XI International Symposium on Digestive Physiology of Pigs, Book of Abstracts, Abstract 2.05, página 58. Montbrió del Camp, Reus, España. Celebrado del 20 al 22 de mayo de 2009.

Aguinaga, M.A., Haro, A., Castellano, R., Seiquer I., Nieto R. y Aguilera, J. F. (2009). *Nutrient composition of the Iberian sow's milk: effect of environmental temperature*. En 60th EAAP Meeting, Book of abstract nº 15, pág. 369. Barcelona, España. Celebrado del 24 al 27 de agosto de 2009.

Aguinaga, M.A., Gómez-Carballar, F., Navarro, A. I., Nieto, R., and J.F. Aguilera. (2010). *Milk intake and protein and energy deposition in suckling Iberian piglets. En Energy and protein metabolism and nutrition*. (Ed. G. Matteo Crovetto), Wageningen Academic Publishers. EAAP publication nº 127. Pág: 379-380. Parma, Italia. Celebrado del 6 al 10 de septiembre de 2010,

y, así mismo, forman parte de las siguientes publicaciones:

Aguinaga, M.A., Gómez-Carballar, F., Nieto, R. y Aguilera, J.F. 2010. Utilisation of milk amino acids by the suckling Iberian piglet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (aceptado)

Aguinaga, M.A., Conde-Aguilera, J.A., Ruiz-Guerrero, V., Navarro A.I., Aguilera, J.F. y Nieto, R. (2010). Incorporation of lysine from microbial origin into tissue protein of Iberian and Landrace×Large White piglets. *Livestock Science* 133, 104–106.

A mi madre

Agradecimientos

Han pasado más de cuatro años desde que comencé esta etapa de mi vida que hoy llega a su fin y no quisiera terminarla sin antes dedicar unas líneas a todas aquellas personas, empresas e instituciones que han formado parte de esta experiencia.

En primer lugar, dar las gracias a mis directores de Tesis Jose F. Aguilera Sánchez y Rosa María Nieto Liñán por brindarme la oportunidad de trabajar en su grupo y ofrecerme todo el apoyo profesional y personal cuando más lo he necesitado.

En segundo lugar, quiero agradecer a la empresa Sánchez Romero Carvajal Jabugo, S.A. (Sevilla), por ceder sus instalaciones en la Finca de Montecastilla en la que he realizado mi trabajo experimental de Tesis. Agradezco igualmente, a la Junta de Andalucía por financiar mi trabajo mediante la concesión de una beca asociada a proyecto. Al Ministerio de Educación y Ciencia de España por apoyar financieramente a los proyectos en los cuales está integrada la presente Tesis Doctoral.

No quiero olvidar a todos los que en algún momento habéis compartido conmigo tiempo y espacio en esta Unidad, especialmente a Luis Lara, quien además de ayudarme a ver la estadística de un modo menos “recalcitrante”, se ha convertido en un gran amigo. A Juan Vera, siempre dispuesto a reparar cualquier desperfecto; a Paco Funes por su ayuda en el cuidado de los animales; a Rafa Hueso, por resolver todas mis dudas del laboratorio; a Alejandro, por evitar que mi ordenador fuera una oveja descarriada; a Angustias, Ana Navarro y Migue, porque sin su ayuda todavía estaría analizando muestras; a Alberto, que desde que comenzamos juntos esta aventura no ha dejado de ayudarme en todo lo posible; a Roberto, Manolo Lachica e Ignacio Fernández Fígares porque sin ellos el desayuno no habría sido lo mismo; a Virginia, Ali, Julia, Tamara, Manolo, Gonzalo Cantalapiedra, Leticia, Nuria y “Bizcochito” porque han sido excelentes compañeros con los que he pasado momentos estupendos; a Ana Haro, Rosa Castellano y Cristina Delgado por prestarme su ayuda y su centrífuga siempre que lo he necesitado, y a todos los que formáis parte de este Centro y hacéis de él un excelente lugar de trabajo.

A Fernando Gómez, que me prestó una gran ayuda para poner en marcha todo el ensayo y llevarlo a cabo a pesar de las contrariedades. A Rosa García, con quien pesé mi primera materia seca y de la que tuve tan buenos consejos mientras coincidimos en el tiempo.

Me gustaría destacar a aquellos que a lo largo de este tiempo han sido capaces de cruzar la línea que separa a un buen compañero de un buen amigo. A Jose y Lucre, por sus risas, su cariño y su buen sentido del humor; a Eva Cristina, por esas maravillosas tardes de reflexión a la hora del “tea-time”, a Bea y Mari Luz, por ser comprensivas, confidentes y amigas inmejorables; a Fran Olivas, “mi becario favorito” porque mientras aprendía, me enseñó a organizar mi cabeza; a M^a Ángeles, por sus buenos consejos delante de una taza de café caliente mientras escuchaba la telenovela de mi vida.

No puedo olvidar a Anne-Helene Tauson, Connie Marianne Frank Matthiesen y todos los compañeros que conocí durante mi estancia en Dinamarca, por permitirme vivir una experiencia profesional y personal maravillosa, que no sólo ha mejorado mi formación sino que además me ha ayudado a crecer personalmente.

A mi familia, porque su apoyo ha sido decisivo para que este momento fuera posible, sobre todo el cariño de mi madre, la persona a la que más admiro de este mundo, y mis hermanos y cuñados, Fernando y Natalia, Begoña y Manolo y Rafa y Anita que no han parado de darme ánimos desde que decidí comenzar mis estudios, y mis sobrinillos, que son la alegría de mi vida y lo que más quiero. Tampoco quiero olvidarme de mis amigos de siempre, Abel e Inma, que al confiar en mis capacidades me han dado la fuerza que necesitaba para poder sacar la Tesis adelante, y por supuesto a Jose, por demostrarme que con amor y cariño se pueden conseguir grandes cosas.

A todos vosotros, MUCHAS GRACIAS.

*“Si se siembra la semilla con fe y se cuida con perseverancia, sólo será
cuestión de tiempo recoger sus frutos.”*

*Thomas Carlyle (1795-1881)
Historiador, pensador y ensayista inglés.*

Sumario

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS | 19 |
| 2. ANTECEDENTES | 27 |
| 2.1. El Cerdo Ibérico. | 29 |
| 2.1.1. Origen y evolución. | 29 |
| 2.1.2. Evolución del censo de cerdo Ibérico. | 33 |
| 2.1.3. Situación del cerdo Ibérico en el sector porcino nacional. | 35 |
| 2.1.4. Fases de cría. | 43 |
| 2.1.5. Diferencias metabólicas del cerdo Ibérico con respecto a cerdos de razas mejoradas. | 44 |
| 2.2. La Lactancia. | 49 |
| 2.2.1. Manejo de los animales durante el periodo de lactancia. | 49 |
| 2.2.2. La glándula mamaria y el proceso de eyección de la leche. | 52 |
| 2.2.3. Composición de la leche de cerda. | 56 |
| 2.2.4. Producción de leche y crecimiento de los lechones. | 62 |
| 2.2.5. Aproximación al conocimiento de las necesidades nutricionales del lechón lactante. | 65 |
| 3. ASPECTOS METODOLÓGICOS | 71 |
| 3.1. Ensayo de lactación. | 73 |
| 3.1.1. Medida de la producción de leche. | 74 |
| 3.1.1.1. Pesada de los animales. | 76 |
| 3.1.1.2. Cálculo de la ingesta de leche. | 77 |
| 3.1.1.3. Cálculo de la ingesta de nutrientes y energía. | 80 |

| | |
|---|-----|
| 3.2. Estimación de la incorporación de lisina microbiana a los tejidos del animal. | 83 |
| 3.2.1. Preparación y análisis de las muestras. | 84 |
| 3.2.2. Cálculo de la tasa de incorporación de aminoácidos microbianos a los tejidos del animal. | 93 |
| 4. PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLETS. | 95 |
| 5. UTILISATION OF MILK AMINO ACIDS IN SUCKLING IBERIAN PIGLET. | 129 |
| 6. INCORPORATION OF LYSINE FROM MICROBIAL ORIGIN INTO TISSUE PROTEIN OF IBERIAN AND LANDRACE X LARGE WHITE PIGLETS. | 163 |
| 7. DISCUSIÓN GENERAL. | 177 |
| 7.1 Ensayos realizados con lechones Ibéricos en lactación. | 179 |
| 7.2 Ensayos realizados con cerdos Ibéricos en crecimiento sobre la utilización de la lisina de origen microbiano. | 192 |
| 8. RESUMEN Y CONCLUSIONES | 197 |
| 9. SUMMARY AND CONCLUSIONS. | 209 |
| 10. BIBLIOGRAFÍA. | 219 |

1. Introducción y Objetivos

El peso alcanzado por el lechón al finalizar el periodo de lactancia es uno de los factores decisivos que determinarán el subsiguiente crecimiento y posterior desarrollo del animal. Este es un hecho documentado en los trabajos publicados sobre esta materia en los que se ha demostrado la relación inversa existente entre el peso obtenido al concluir la lactancia, y el tiempo requerido para obtener un peso determinado en fases posteriores (Mahan y Lepine, 1991; Lawlor y col., 2002).

Por otra parte, el destete representa uno de los momentos más críticos en la vida productiva del lechón, en el que éste ha de afrontar una serie de situaciones y cambios fisiológicos que pueden llegar a comprometer seriamente su supervivencia. En condiciones naturales, este proceso se produce de forma gradual entre las 14 y 17 semanas de edad (Jensen, 1986), de modo que tiene lugar una transición progresiva que permite al animal alcanzar un óptimo desarrollo enzimático e inmune del tracto gastrointestinal. Los actuales sistemas de explotación porcina en intensivo, llevan a cabo el destete de forma brusca alrededor de los 28 días de edad, que enfrenta al lechón abruptamente a una serie de nuevas circunstancias, sin un periodo suficiente de adaptación: cambio a una dieta sólida, menos digestible que la leche materna; mezcla con lechones de otras camadas, cambios en el ambiente, transporte, nuevas situaciones inmunológicas, etc. (Puppe y col., 1997; Merlot y col., 2004). Existen estrategias de manejo que tratan de minimizar las consecuencias de los cambios bruscos acontecidos en esta

etapa, tales como el suministro de un pienso de iniciación, el control sanitario de las nuevas instalaciones en las que los lechones serán alojados, etc.. Es conocido que el destete convencional del lechón está asociado a una reducción en la ingesta de nutrientes, disminución en la tasa de crecimiento y mayor susceptibilidad a sufrir diarrea durante los días sucesivos (Madec y col., 1998; Gonyou, 1998; Berkevel, 2009). Por consiguiente, aquellos cerditos que hayan conseguido un crecimiento más adecuado durante la lactancia tendrán una mayor capacidad para afrontar la transición a las nuevas condiciones. Por ello resulta de vital importancia que los animales alcancen la mayor madurez fisiológica posible en esta temprana etapa.

Bajo condiciones similares de explotación, el crecimiento del lechón Ibérico durante el periodo de lactancia es menor que el observado para genotipos porcinos convencionales o magros. De acuerdo a Laguna Sanz (1998), los estudios realizados durante la segunda mitad del siglo XX en las explotaciones de cría del cerdo Ibérico indican que el peso medio de los lechones al alcanzar las tres semanas de edad oscila entre 3,67 - 4,55 Kg. Sin embargo, en genotipos convencionales, lechones de la misma edad bajo condiciones de explotación semejantes, alcanzan pesos más elevados, comprendidos entre 4,65 - 5,87 Kg (Lewis y col., 1978; Coffey y col., 1982; Noblet y Etienne, 1986) .

Entre los factores que influyen en la capacidad de crecimiento del lechón a lo largo del periodo de lactancia destacan el tamaño de la camada y el peso

al nacimiento. Ambos factores están interrelacionados, puesto que a mayor tamaño de camada menor será el peso de los neonatos (Milligan y col., 2002a). Cuanto menor sea el peso al nacimiento, serán menores las tasas de crecimiento, no sólo durante el periodo de lactación, sino también las alcanzadas en etapas posteriores (Milligan y col., 2002a; Quiniou, y col., 2002; Wolter, 2002). El tamaño de la camada en el genotipo Ibérico es más reducido que el observado en razas porcinas convencionales, oscila entre 6,5 y 7,5 lechones por camada (Laguna Sanz, 1998; Buxadé, 2001). En razas mejoradas, la tendencia a la selección de cerdas más prolíficas durante la última década ha conducido a valores medios de 12,8 lechones por camada (Le Dividich y col., 2003). En cuanto al peso de los lechones neonatos, en la raza Ibérica, este parámetro oscila entre 1,3 y 1,4 Kg (Buxadé, 2001; Barba y col., 2002), valores que no difieren sustancialmente de los observados para razas mejoradas, que se encuentran en el rango de 1,38 a 1,52 Kg (Manners, 1963; Noblet y Etienne, 1986; Valros y col., 2002).

Descartados peso al nacimiento y tamaño de camada como posibles causantes de la baja tasa de crecimiento del lechón Ibérico, cabe plantearse la hipótesis de que la cerda Ibérica no fuese capaz de generar la producción láctea y el aporte de nutrientes en la leche adecuados para asemejar los ritmos de crecimiento observados en los lechones de genotipos magros. En efecto, se sabe que tanto la cantidad de leche como su composición pueden limitar el crecimiento de los lechones (Williams, 1995) y que la composición de la leche varía entre las distintas razas porcinas (Fahmy, 1972; Zou y col., 1992). La

ingesta de leche está directamente relacionada con el peso del lechón, los animales de mayor peso consumen más leche que aquéllos de peso menor, a pesar de que el consumo relativo (g/Kg PV) permanece relativamente constante (Campbell y Dunkin, 1982). Existen numerosos estudios llevados a cabo en cerdas de genotipos convencionales o magros sobre composición y producción de leche (Hughes y Hart, 1935; Pond y col., 1962; Speer y Cox, 1984; Noblet y Etienne, 1986; Atwood y Hartmann, 1992; Daza, 2004, etc.), sin embargo, no existe ningún tipo de información al respecto para cerdas de genotipo Ibérico.

Por otra parte, en numerosos trabajos llevados a cabo en el seno de nuestro grupo de investigación se han puesto de manifiesto las peculiaridades metabólicas del genotipo Ibérico frente a las razas porcinas convencionales en distintas fases de la vida productiva del animal (Nieto y col., 2002; Rivera-Ferre y col., 2005; Barea y col., 2007; Fernández-Fígares y col., 2007; García-Valverde y col., 2007; Nieto y col., 2008). Es posible que estas diferencias se manifiesten incluso en etapas tempranas de la vida. Por ello no se debe descartar la hipótesis de que, al igual que ocurre en etapas posteriores, exista en el lechón Ibérico una limitación en la utilización metabólica de los nutrientes que condicione su crecimiento. La información disponible sobre genotipos convencionales sugiere altos niveles de eficiencia metabólica durante esta etapa productiva (Pluske y Dog, 1998), pero desconocemos si la utilización metabólica de los nutrientes en el organismo del lechón Ibérico es similar a la observada en estas razas porcinas.

En el cerdo Ibérico, la deposición de proteína es comparativamente menor y la deposición de grasa superior a la observada en cerdos de razas convencionales o mejoradas, altamente seleccionadas para alcanzar ritmos elevados de crecimiento y de ganancia de tejido magro. La deposición proteica corporal es el resultado del balance neto entre la síntesis y degradación proteica que tienen lugar en los tejidos del animal. La velocidad de síntesis proteica tisular está influenciada en gran medida por la calidad nutricional de la proteína de la dieta, que depende principalmente de su composición aminoacídica, especialmente de su contenido en aminoácidos esenciales. Estudios anteriores de este grupo de investigación constatan una menor sensibilidad del cerdo Ibérico a un aporte deficiente de lisina en la dieta que la que presenta un cerdo de raza convencional, como es el Landrace, determinada tanto en la medida de los componentes de la renovación de proteína total de su organismo, síntesis y degradación proteicas, como en las estimaciones de la deposición de proteína realizadas mediante ensayos de balance de nitrógeno (Rivera-Ferre y col., 2006). Cabe argumentar varias posibles causas, no excluyentes, de esta diferencia metabólica entre genotipos. En este proyecto de Tesis Doctoral se aborda el estudio de una de ellas: que en el cerdo Ibérico la absorción de lisina de origen microbiano en el intestino delgado fuese comparativamente superior a la que tendría lugar en genotipos porcinos mejorados.

Con estos antecedentes, el objetivo general de esta Tesis Doctoral es el estudio de la utilización de nutrientes y necesidades nutritivas del lechón

Ibérico y el análisis de los factores nutricionales ligados a la lactancia que pudieran limitar su crecimiento, con especial énfasis en la fracción proteica. Además, se aborda el estudio comparado de la posible absorción de aminoácidos de origen microbiano en el genotipo Ibérico en comparación con lechones de una raza convencional en el periodo del post-destete.

Los objetivos concretos de esta Tesis Doctoral son:

- Determinar la producción de leche de la cerda Ibérica, su composición en nutrientes y su contenido energético.
- Cuantificar la ingesta de leche y la eficiencia de utilización de los nutrientes y energía de la misma en lechón Ibérico.
- Analizar la composición aminoacídica de los tejidos del lechón y la eficiencia de utilización de los aminoácidos procedentes de la leche materna, especialmente de los esenciales.
- Identificar las causas de la baja eficiencia productiva del lechón Ibérico durante la lactancia en comparación con las observadas en otros genotipos porcinos.
- Determinar la incorporación de lisina procedente de la síntesis microbiana en el intestino en lechones Ibéricos y de una raza mejorada durante el periodo de post-destete.
- Explorar si la utilización de lisina de origen microbiano pudiera explicar la menor sensibilidad del lechón Ibérico a un aporte deficiente de lisina en su dieta.

2. Antecedentes

2.1 El Cerdo Ibérico

2.1.1 Origen y evolución

Los cerdos domésticos actuales proceden de cuatro subgéneros, diferenciados entre sí por sus caracteres craneales y cefálicos y sus respectivas áreas de difusión e influencia:

S. Eusus: Del que descienden los actuales cerdos indonesios.

S. Striatosus: Del cual han derivado los cerdos asiáticos.

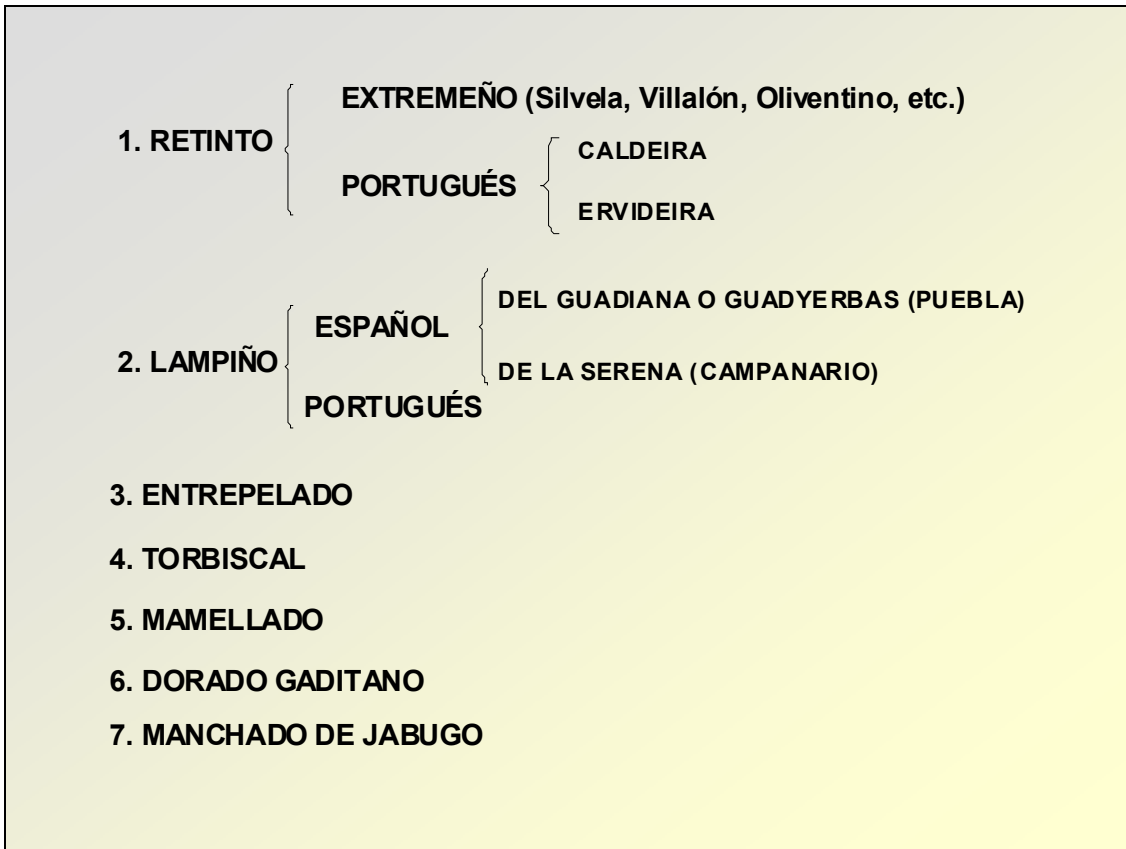
S. Scrofa Ferus: Del que proceden los actuales cerdos de tipo céltico.

S. Mediterraneus: Del cual se desarrollaron los cerdos de tipo Ibérico.

El *Sus mediterraneus* se caracterizaba por un perfil subcóncavo, con una longitud facial relativa y un lagrimal de proporciones medias. Invadió España desde la periferia del litoral Mediterráneo hacia el centro asentándose en Andalucía, Extremadura, Levante y meseta Castellana. En su evolución dio

lugar al cerdo Ibérico, raza Ibérica o también denominado tronco Ibérico. (Diéguez Garbayo, 2001).

Laguna Sanz (1998) propone definir al cerdo Ibérico como el “representante de una población porcina autóctona, descendiente de un tronco ancestral prehistórico originado en la Península Ibérica, que se ha manifestado en diversas agrupaciones diferenciadas por la características de la capa. Su localización geográfica acredita una singular asociación biótica de interacción con el ecosistema de la dehesa, siendo su principal característica distintiva la cualidad de la carne, base para la obtención de productos de alta calidad”. Teniendo en cuenta que la identificación del cerdo Ibérico como “raza”, quizás, no permita diferenciar sus poblaciones y que además, el término “tronco” puede inducir a error en el argot actual, ya que podría interpretarse como sinónimo de cruzamiento con otras razas, la asociación AECERIBER (Asociación Española de Criadores de Ganado Porcino Selecto Ibérico Puro y Tronco Ibérico), designada como organización inspectora de razas por la Dirección General de Recursos Agrícolas y Ganaderos, define al cerdo Ibérico puro como una agrupación racial. Por su parte, Diéguez Garbayo (2001) propone una clasificación del cerdo Ibérico basada en las diferentes estirpes, reflejadas en la figura 2.1, cinco de las cuales están reconocidas en el catálogo Oficial de razas de Ganado de España: Negro Lampiño, Torbiscal y Manchado de Jabugo como variedades en peligro de extinción, y Retinto y Entrepelado como variedades de fomento (R.D.2129/2008, de 27 de enero de 2009).



*Figura 2.1. Clasificación y nomenclatura de las estirpes del cerdo Ibérico.
(Buxadé y Daza, 2001)*

Actualmente, la estirpe más extendida es la Silvela, perteneciente a la variedad Retinta Extremeña, sobre la que se ha llevado a cabo la presente Tesis doctoral, gracias a la adquisición de los animales a la empresa Sánchez Romero Carvajal Jabugo S. A.



Figura 2.2. Cerdos Ibéricos de la estirpe Silvela.

Limitado tradicionalmente al sudoeste de la península ibérica y en consonancia con la superficie de la dehesa arbolada, la distribución del cerdo Ibérico se circunscribe a las provincias españolas de Salamanca, Cáceres, Badajoz, Ciudad Real, Toledo, Sevilla, Córdoba, Huelva, Cádiz y Málaga (figura 2.3).

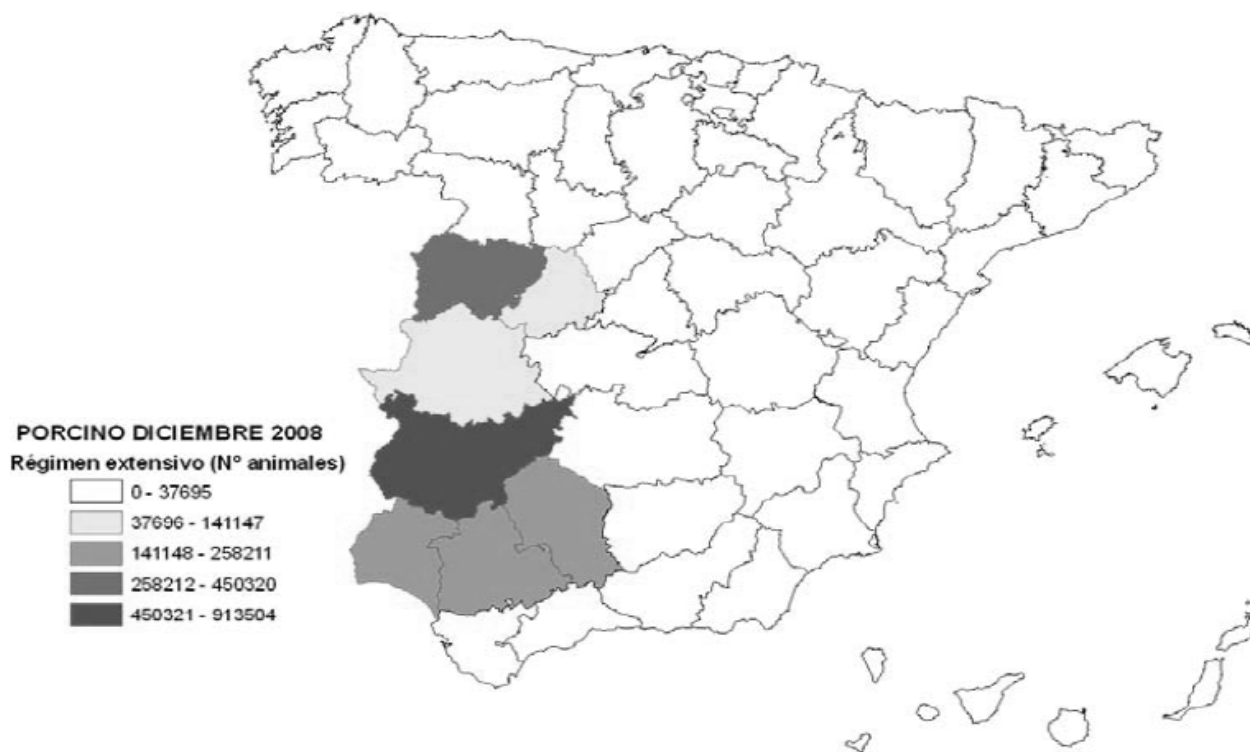


Figura 2.3. Fuente: MARM, 2008

2.1.2 Evolución del censo de cerdo Ibérico

La evolución del censo porcino Ibérico en España ha sido muy desigual en los últimos 50 años. A mediados del siglo XX, época en que la agrupación racial Ibérica era la más importante dentro de la actividad ganadera de nuestro país y gozaba de gran consideración y protección, el ganado porcino Ibérico constituía el 40% del total del censo porcino (García-Valverde, 2007). Al inicio de la década de los sesenta, una profunda crisis afectó al porcino Ibérico,

debido a una serie de factores socioeconómicos y sanitarios como son (Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola (INEA), 2002):

- Aparición de la peste porcina.
- Cambios de gustos en el consumidor, con disminución del consumo de carne de cerdo por su exceso de grasa.
- Introducción de razas foráneas
- Cruzamientos indiscriminados con la raza Duroc.

Como consecuencia, el censo de animales sufrió una drástica caída que provocó la casi total desaparición de la raza y originó una gran pérdida de abundante variabilidad genética debido a la práctica extinción de algunas estirpes o variedades. Posteriormente, tras la desaparición de la peste porcina africana, los cambios experimentados en el consumo, la mayor apreciación social de los productos curados del cerdo Ibérico y el creciente interés en fomentar la producción agropecuaria extensiva con el fin de preservar determinados ecosistemas, facilitaron en los años 90 la recuperación del censo de porcino Ibérico, alcanzando a mediados de esta década los 2,36 millones de animales y los 2,96 millones en el 2007. A partir de este año el censo ha caído en aproximadamente un 20% (figura 2.4). Las causas de este descenso pueden ser atribuidas a factores tales como la coyuntura económica general, que ha derivado en una falta de demanda de productos, junto a la sobreproducción de años anteriores. (Cruz, 2009).

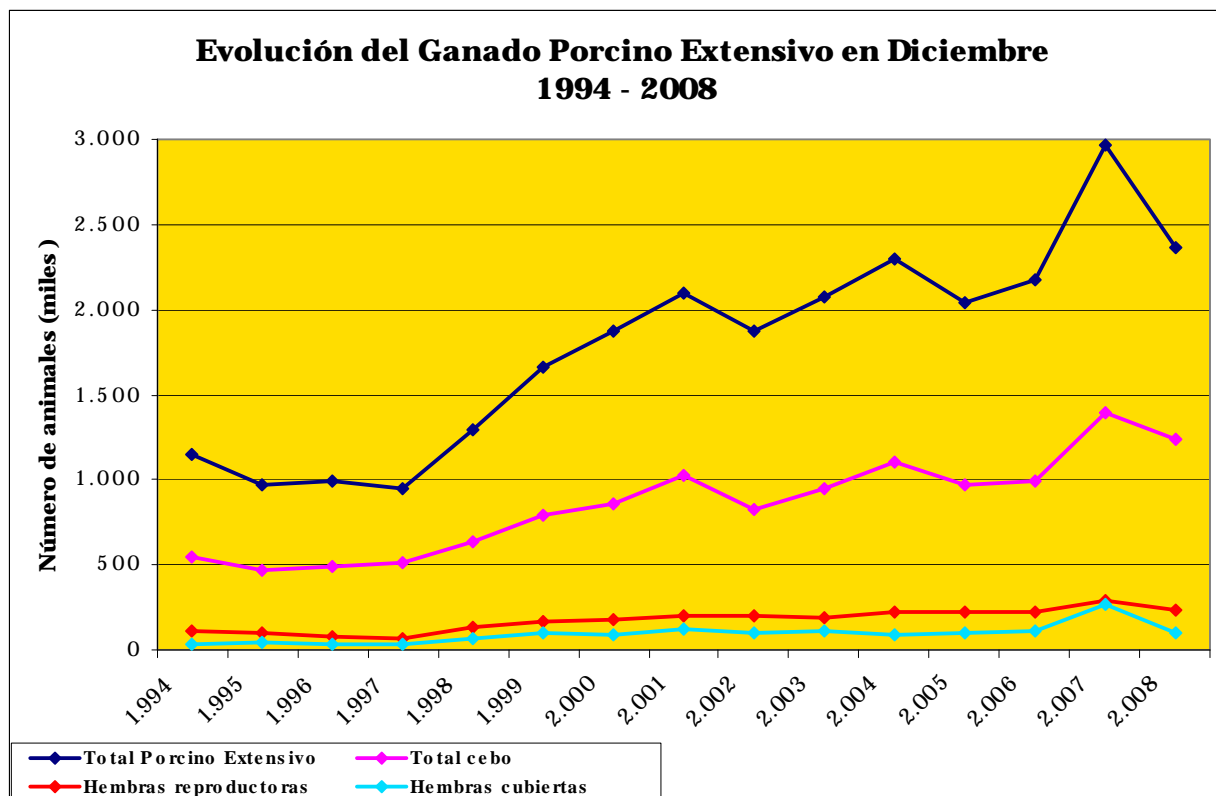


Figura 2.4. Fuente: MARM, 2010

2.1.3 Situación del cerdo Ibérico en el sector porcino nacional

Dadas sus características zootécnicas (fisiológicas, patológicas, nutricionales, de manejo, etc.), la porcicultura ha alcanzado, junto con la avicultura, el mayor grado de industrialización y de intensificación productiva de las distintas especies de abasto, alcanzando 25.817,6 miles de cabezas en Mayo del 2009 (MARM). Ello ha llevado a la desaparición o cuasi desaparición de las distintas razas autóctonas pertenecientes al tronco céltico –de capa blanca– y del tronco Ibérico –de capa negra–. No obstante, este último tronco racial ha logrado recuperarse hasta alcanzar aproximadamente el 11% del censo nacional, gracias a la elevada calidad de los productos cárnicos

derivados y a la superación de antiguas barreras sanitarias que limitaban nuestro acceso a los mercados exteriores. Por el contrario, el tronco céltico ha sido completamente sustituido por híbridos industriales obtenidos a partir de razas blancas de origen europeo. Según datos del MARM (Dic. 2008), España ocupa la segunda posición del total del censo porcino en la Unión Europea, con un 24,31%, superado sólo por Alemania, cuyo censo porcino representa el 24,93% del total.

Actualmente, el subsector porcino español se encuentra estructurado en dos ramas bien diferenciadas: la industria del porcino blanco y la del cerdo Ibérico. Tradicionalmente, los productos cárnicos procedentes del cerdo blanco se han orientado hacia la producción de carnes muy magras a partir de animales sacrificados con un peso vivo inferior a los 100 Kg (López Bote y col., 2000), mientras que la producción de cerdo Ibérico ha estado orientada a la obtención de productos de alta calidad con el aprovechamiento de los recursos de la dehesa, principalmente la bellota, siendo sacrificados los animales al alcanzar un peso comprendido entre los 140-160 Kg, y por lo tanto, con un mayor contenido de grasa intramuscular, rica en ácido oleico (Buxadé y Daza, 2001). De aquí que las diferencias en coste y calidad entre los productos cárnicos de cerdo blanco, sacrificado a pesos ligeros, y los procedentes de cerdo Ibérico, producidos por el sistema tradicional en montanera, sean notables.

Hoy en día, la diversificación del mercado demanda productos con calidades intermedias entre la canal de cerdo blanco y la canal de cerdo Ibérico

producido en montanera, de modo que el consumidor pueda elegir según sus preferencias y sus presupuestos. Una opción que permite atender a esta nueva demanda diversificada del mercado consiste en ampliar la gama de calidades del genotipo Ibérico. De ese modo, se pasa de obtener un tipo de producto único, procedente del cerdo Ibérico terminado de engordar con alimentos exclusivamente de la montanera, a conseguir cuatro tipos de productos, de bellota, recebo, cebo de campo y cebo, en función de la alimentación que reciba el animal antes de su sacrificio. El Real Decreto 1469/2007 de 2 de Noviembre establece los requisitos mínimos que debe cumplir el animal para ser considerado de una u otra categoría:

a) *De bellota o terminado en montanera*: Podrá ser empleada para aquellos productos elaborados o productos procedentes del despiece de la canal que se comercializan en fresco obtenidos a partir de animales que se destinan al sacrificio inmediatamente después del aprovechamiento exclusivo de bellotas, hierba y demás recursos naturales de la dehesa, sin posibilidad de administración de alimentación suplementaria, siempre y cuando el citado aprovechamiento se haya realizado bajo unas condiciones mínimas, de entre las que cabe destacar:

1º El peso medio de entrada en montanera de cada lote estará comprendido entre 92 y 115 kilos.

2º La reposición en montanera será como mínimo de 46 kilos durante una estancia mínima en la dehesa de 60 días.

3° La edad mínima al sacrificio será de 14 meses.

4° El peso mínimo al sacrificio será de 117 Kg como peso medio de las canales del lote y de 108 Kg como peso mínimo individual por cada canal.

5° La carga ganadera total de la dehesa en ningún caso será mayor de 2 cerdos en montanera por hectárea.

b) *De recebo o terminado en recebo*: Podrá ser empleada para aquellos productos elaborados o productos procedentes del despiece de la canal que se comercializan en fresco obtenidos a partir de animales que después de reponer un mínimo de peso en montanera su cebo sea completado mediante el aporte de piensos, constituidos fundamentalmente de cereales y leguminosas, hasta el momento de su sacrificio y que al menos reúna las siguientes características:

1° El peso medio de entrada en montanera de cada lote estará comprendido entre 92 y 115 kilos.

2° La reposición en montanera será como mínimo de 29 kilos. Los animales deberán permanecer en la dehesa una estancia mínima de 60 días.

3° La edad mínima al sacrificio será de 14 meses.

4° El peso mínimo al sacrificio será de 117 Kg como peso medio de las canales del lote y de 108 Kg como peso mínimo individual por cada canal.

5° Durante la etapa de montanera la carga ganadera total de la dehesa en ningún caso será mayor de 2 cerdos en montanera por hectárea.

c) *De cebo de campo*: Podrá ser empleada para aquellos productos elaborados o procedentes del despiece de la canal que se comercializan en fresco, obtenidos a partir de animales cuya alimentación se basa en piensos constituidos fundamentalmente por cereales y leguminosas y que completan su alimentación mediante una estancia mínima en campo, previa a su sacrificio, de 60 días, durante la cual también recibirán una alimentación a base de pienso. Estos animales deben reunir, al menos, las características siguientes:

1° La edad mínima al sacrificio será de 12 meses.

2° El peso medio de entrada en la fase de cebo en campo, para cada lote, estará comprendido entre 92 y 115 kilos.

3° El peso mínimo al sacrificio será 117 Kg como peso medio de las canales del lote y de 108 Kg como peso mínimo individual por cada canal.

4° La fase final de cebo se realizará en campo, entendiéndose como tal al recinto cerrado no cementado en el que se ceban los cerdos y que, al menos, reúne las características siguientes:

a. Los comederos deberán estar separados de los bebederos una distancia superior a 100 metros.

b. La densidad máxima será de 15 cerdos por hectárea.

d) *De cebo*: Podrá ser empleada para aquellos productos elaborados o productos procedentes del despiece de la canal que se comercializan en fresco obtenidos a partir de animales cuya alimentación hasta alcanzar el peso de sacrificio se basa en piensos constituidos fundamentalmente por cereales y leguminosas y que, al menos, reúne las características siguientes:

1° La edad mínima al sacrificio será de 10 meses.

2° El peso mínimo al sacrificio será de 117 Kg como peso medio de las canales del lote y de 108 Kg como peso mínimo individual por cada canal.

En relación con la raza del animal que genera la materia prima, se establecen dos designaciones:

- Ibérico puro: procedente de madre y padre Ibéricos puros, inscritos en el libro genealógico.

- Ibérico: procedente de madre Ibérica o Ibérica pura.

De los 2.948.219 cerdos Ibéricos comercializados en España en el año 2009, el 87% correspondían a Ibérico y sólo un 13 % a Ibérico puro (MARM, 2009). En la tabla 2.1 se muestra su distribución, según categorías.

| Ibérico puro | Nº animales | % |
|---------------------------|--------------------|------------|
| bellota | 253990 | 8,62 |
| recebo | 20496 | 0,7 |
| cebo campo cebo | 15215 | 0,52 |
| cebo | 93668 | 3,18 |
| total Ibérico puro | 383369 | 13 |
| Ibérico | | |
| bellota | 598803 | 20,31 |
| recebo | 29818 | 1,01 |
| cebo campo cebo | 31654 | 1,07 |
| cebo | 1904575 | 64,6 |
| total Ibérico | 2564850 | 87 |
| total | 2948219 | 100 |

Tabla 2.1. Fuente MARM, 2009

La producción de cerdo Ibérico está fuertemente ligada al uso de la dehesa, ecosistema agrosilvopastoral orientado hacia la producción ganadera extensiva, caracterizado por la naturaleza de sus estratos arbóreo y herbáceo y por el aprovechamiento ganadero. No obstante, la amplitud del ciclo productivo del cerdo Ibérico, necesaria para que el animal alcance el peso comercial y la calidad óptima en sus productos y los factores que inciden en la regresión de la

superficie adehesada (invasión de matorral, expansión de la superficie cultivada, desertificación por laboreo excesivo, la seca del encinar, etc.) aparecen, junto a problemas sanitarios, como serios obstáculos para un mayor desarrollo de esta industria típicamente nacional (Vílchez Campillos, 2004). La alimentación del cerdo Ibérico en montanera se basa en el consumo de bellota, que proporciona el perfil característico de ácidos grasos al tejido lipídico del animal y un aroma especial a sus productos curados.

El jamón Ibérico es un producto que goza de gran demanda en el mercado, con una imagen de máxima calidad, cuya producción en el año 2005 ha ascendido a 2,8 millones piezas con un valor económico aproximado de 435 millones de euros, frente a los 34 millones piezas de jamón de cerdo blanco, cuyo valor asciende a 1.325 millones de euros, según datos del MARM. Estos datos ponen de manifiesto que, mientras el volumen efectivo de piezas procedentes del Ibérico es pequeño en relación con el cerdo blanco (7,6%), la importancia económica del Ibérico es mucho mayor (25%) (Agrodigital, 2006). La producción de productos del Ibérico ha continuado aumentado en los últimos años. Según datos del MARM, en España se produjeron en 2008 4,61 millones de piezas de jamón Ibérico, aumentando esta cifra a 5,16 millones en el año 2009. Los principales productores son Castilla y León, con un 60% del total de la producción, seguidos de Andalucía, con un 17% y Extremadura con un 15% (MARM, 2009). De la producción total de jamones ibéricos, la mayor parte fueron jamones ibéricos de cebo (81,24%) y tan sólo un 16,07% fueron jamones ibéricos de bellota. La realidad que muestran los datos censales supone que ha habido una sobreproducción preocupante, que ha dado lugar a

un importante descenso de los precios en esta gama, llegando a reducir su valor en un 50%, si bien tanto en 2008 como en 2009 el ibérico de bellota ha defendido sus cotizaciones (Besana, 2009). El derrumbe de precios del ibérico casi a precio de jamón blanco ha traído como consecuencia una reducción espectacular de las ventas del jamón curado de cerdo blanco (Martínez H., 2010), ya que muchos consumidores están pasándose a un producto que hasta hace unos años era inaccesible y que goza de gran atractivo. De todos modos, el número de animales sacrificados en el 2009 ha sido un 25% menor que en el 2008, por lo que se abre una puerta a la esperanza para la recuperación de este sector. (Bravo A., 2010)

2.1.4 Fases de cría

Las fases en que actualmente tiende a dividirse la producción de cerdo Ibérico se resumen en la tabla 2.2:

| FASES | DENOMINACIÓN | PESO APROXIMADO (Kg) | | EDAD APROXIMADA |
|------------------------|--------------|--------------------------------|--------|--------------------|
| | | LACTACIÓN (NACIMIENTO DESTETE) | LECHÓN | LACTANTE |
| CRÍA (DESTETE RECRÍA) | DESTETADO | De 7 a 25 | | de 1 a 3 meses |
| RECRÍA (RECRÍA CEBO) | MARRANO | de 25 a 65 | | de 3 a 6-7 meses |
| | PRIMAL | de 65 a 100 | | de 6-7 a 8-9 meses |
| CEBO (CEBO SACRIFICIO) | GORDO | >De 100 | | >De 9 meses |

Tabla 2.2. Fases de la producción de los cerdos Ibéricos

El primer periodo de vida del animal es la fase de lactación, y comprende desde el momento del nacimiento hasta los 7 Kg aproximadamente, lo que supone un periodo de lactancia de aproximadamente un mes. La dieta inicial es la leche materna, independientemente de que se ponga en práctica un destete precoz o no. Pasados los primeros días de vida, es conveniente poner a disposición de los lechones un pienso de iniciación que irán ingiriendo paulatinamente. Una vez que los cerdos se destetan, comienza la etapa de crecimiento que se divide a su vez en dos periodos: cría y recria. La primera comprende desde el destete hasta que alcanzan un peso máximo de aproximadamente 25 Kg que se corresponde con una edad de entre 1 a 3 meses. La fase más importante y más influyente en cuanto a la composición y calidad los productos del cerdo Ibérico es el cebo.

2.1.5 Diferencias metabólicas del cerdo Ibérico con respecto a cerdos de razas mejoradas

El perfil metabólico del cerdo Ibérico difiere en gran medida del de las razas porcinas mejoradas. En el genotipo Ibérico la deposición de proteína es comparativamente menor y la deposición de grasa mayor que la observada en cerdos de razas convencionales o mejoradas, altamente seleccionadas para alcanzar ritmos elevados de crecimiento y de deposición de proteína (Nieto y col., 2002; Barea y col., 2007; García-Valverde y col., 2007).

Es bastante reducido el número de trabajos realizados para comprobar la existencia de diferencias en capacidad digestiva entre el cerdo Ibérico y

cerdos de razas mejoradas. Aún así, las publicaciones existentes al respecto (Nieto y col., 2001; Morales y col., 2002; Rivera Ferre, 2003; Barea y col., 2010), muestran resultados contradictorios.

Para obtener una mayor productividad y por tanto una mayor rentabilidad, es necesario que los animales reciban la alimentación adecuada en cada una de las fases de su desarrollo. Lamentablemente, en el cerdo Ibérico esta información sólo ha comenzado a estar disponible muy recientemente y aún así es bastante limitada, lo que resulta realmente sorprendente, dada la importancia, ya comentada, que tiene el cerdo Ibérico dentro del sector porcino nacional. En ausencia de datos específicos sobre sus necesidades nutricionales, la alimentación de estos animales se ha realizado mediante la formulación de mezclas compuestas basada en recomendaciones publicadas para cerdos de razas convencionales o mejoradas, cuyos requerimientos nutricionales son bien conocidos (Agricultural Research Council (ARC), 1981; National Research Council (NRC), 1998). De aquí que el departamento de Nutrición animal de la EEZ iniciase una línea de investigación con el objetivo de determinar las necesidades nutricionales del cerdo Ibérico en sus distintas fases de desarrollo, de modo que se pudieran establecer recomendaciones para su explotación eficiente y compatible con criterios rigurosos de sostenibilidad en el uso de los recursos, protección ambiental y bienestar animal. A este respecto es de destacar la importancia de la determinación de las necesidades de proteína, aminoácidos y energía, cuyo conocimiento permite racionar a esta agrupación racial de acuerdo con sus singularidades metabólicas, lo que resulta de extraordinaria interés tanto por

sus efectos nutricionales (máxima eficiencia en el uso de nutrientes, mayor velocidad de crecimiento, óptimo desarrollo y conformación del animal, etc.), de indudable incidencia económica, como ecológicos (reducción de la contaminación ambiental). Las distintas publicaciones del departamento de Nutrición animal de la EEZ en esta línea de investigación (Nieto y col., 2002 y 2003; Barea, 2005; Barea y col., 2007; García-Valverde y col., 2007) definen la máxima capacidad de deposición proteica de animales de la estirpe Silvela durante los períodos de recría y acabado, y los cambios que experimenta el ritmo de deposición de proteína con alteraciones en el plano de ingestión, factor de extraordinaria importancia en el manejo de la explotación. Así mismo, los cambios que se producen en su composición corporal como resultado de alteraciones en el valor de la relación proteína: energía de la dieta o en la ingesta de alimento. Estas publicaciones han contribuido a cubrir una importante carencia de información sobre la alimentación racional de la raza porcina Ibérica, desde el punto de vista del aporte energético y proteico de la dieta, acorde con sus características metabólicas. Paralelamente, se han desarrollado estudios comparativos de carácter eminentemente básico en los que se aportan nuevos conocimientos que ayudan a explicar algunas de las peculiaridades metabólicas de esta raza autóctona (Rivera-Ferre y col., 2005; Rivera-Ferre y col., 2006; Fernández-Fígares y col., 2007a; Fernández-Fígares y col., 2007b). Con estos antecedentes, abordamos aquí el estudio de las necesidades nutritivas del lechón y analizamos factores nutricionales ligados a la lactancia que pudieran limitar su crecimiento. La presente tesis reúne trabajos de investigación realizados como parte del proyecto AGR-0395, financiado por la Junta de Andalucía con esta finalidad.

Por otro lado, ensayos de balance de nitrógeno llevados a cabo con dietas equilibradas en su composición aminoacídica o deficientes en lisina nos han permitido observar que diversos parámetros relacionados con la utilización de la proteína de la dieta, tales como la renovación de proteína total del organismo, la síntesis y degradación proteica, y la deposición de proteína, resultaban menos afectados por dicha deficiencia en cerdos Ibéricos que en cerdos de capa blanca. Este hecho podría deberse a varias causas, no excluyentes:

- a) Que la composición aminoacídica de la proteína corporal pueda diferir entre razas, de modo que el perfil de aminoácidos de la proteína ideal pudiera ser algo diferente para ambos genotipos.
- b) Que la deficiencia de lisina sea una situación nutricional común en el cerdo Ibérico, particularmente durante su cebo en montanera, ya que la proteína de bellota aporta a los tejidos del animal sólo el 37% de la lisina presente en la “proteína ideal” (Nieto y col., 2002a), lo que puede sustentar la hipótesis del desarrollo en el cerdo Ibérico de mecanismos de adaptación a tal déficit.
- c) Que en el intestino delgado del cerdo Ibérico, la absorción de lisina de origen microbiano sea comparativamente superior a la que tendría lugar en genotipos porcinos convencionales o mejorados.

En la presente Tesis analizamos esta tercera causa: el cerdo Ibérico podría beneficiarse de una mayor absorción relativa de lisina de origen microbiano a nivel intestinal. Torrallardona y col. (2003a) demostraron que el cerdo puede absorber cantidades significativas de lisina de procedencia microbiana a través de su intestino delgado. Su estudio no sólo confirma la incorporación de lisina al organismo del animal monogástrico omnívoro, sino que demuestra que mediante la síntesis microbiana que tiene lugar en su intestino, el cerdo puede obtener aminoácidos esenciales sintetizados a partir de los carbohidratos de la dieta, de modo que tal contribución a las necesidades aminoacídicas totales del animal pudiera ser altamente significativa; por ejemplo, para la lisina se aproximaría a 1g/día, esto es, a un 10% de los requerimientos totales del animal en crecimiento rápido, en tanto que en un animal adulto de 150 Kg PV, si se asume al menos la misma absorción del aminoácido que en el animal joven, igualaría sus necesidades de mantenimiento (Fuller y Reeds, 1998). Un factor a considerar en la evaluación de esta hipótesis es el desarrollo del tracto digestivo del cerdo Ibérico. Rivera-Ferre y col. (2005), al comparar la contribución de las vísceras al peso total de cerdos Ibéricos y Landrace, sacrificados aproximadamente a 26 Kg PV, encontraron que ésta era en la raza Ibérica un 20% superior para el tracto gastrointestinal completo. En cualquier caso, la hipótesis anteriormente expuesta no excluye la de considerar que el cerdo Ibérico tuviese necesidades relativas de aminoácidos distintas a las publicadas para genotipos convencionales o mejorados, debido fundamentalmente a las diferencias existentes en las contribuciones relativas de tejidos y órganos a su composición

corporal o bien, a su adaptación evolutiva a regímenes alimenticios pobres en lisina.

2.2 La Lactancia

2.2.1 Manejo de los animales durante el periodo de lactancia

El periodo de lactancia constituye uno de los momentos más críticos en la vida del animal, ya que es en esta fase cuando el lechón comienza a luchar por la supervivencia y se da una mayor tasa de mortalidad, que desde el punto de vista productivo puede suponer entre un 10-20% de los costes totales de la explotación. La mayor parte de esta mortalidad (70-80%) se produce durante los 3 primeros días de vida y se encuentra relacionada con la vitalidad del lechón. A mayor vitalidad, mayor capacidad de competir con sus hermanos y menor probabilidad de morir por aplastamiento, una de las principales causas de mortalidad durante los primeros días tras el parto. Por su parte, la vitalidad también se encuentra relacionada con el peso al nacimiento, ya que los lechones con pesos inferiores a los de sus hermanos manifiestan más problemas de termorregulación debido a su relación superficie-volumen más desfavorable y además son menos competitivos en la ubre y acaban ingiriendo menos calostro (Chapinal, 2006). Existen además otras causas de mortalidad como son las infecciones por el cordón umbilical, que pueden conducir a una septicemia generalizada o el canibalismo entre los lechones cuando el espacio

es insuficiente y el peso de la camada muy heterogéneo. Por otra parte, debido a que el lechón no posee un sistema inmunitario desarrollado al nacimiento, es susceptible de sufrir infecciones causadas por organismos patógenos entéricos, que a menudo provocan diarreas, problema importante y casi inevitable en toda explotación confinada y que acarrea la muerte del lechón si no se trata de manera adecuada. Muchos de estos efectos se pueden minimizar mediante un manejo adecuado, que aumentará tanto la supervivencia y el bienestar del lechón como los índices productivos de la explotación. Entre las prácticas de manejo más comunes destacan (Pérez, 2009):

- *Inyección de hierro.* La leche de cerda provee agua, energía, proteína y muchos minerales esenciales, pero no contiene suficiente hierro para mantener las concentraciones adecuadas de hemoglobina en la sangre de los lechones. Las necesidades de hierro en el lechón son de 7mg/día y la leche materna sólo aporta 1mg/día, por lo que para evitar la anemia en el lechón, es necesario suministrarles hierro vía intramuscular a los dos o tres días del nacimiento.
- *Corte de colmillos.* Los lechones nacen con ocho dientes totalmente emergidos que utilizan para competir por los pezones. Es conveniente realizar el corte de los colmillos de modo que no lastimen los pezones de la madre (figura 2.5).



Figura 2.5. Imagen de mama de cerda Ibérica.

- *Mantenimiento de la temperatura.* Debido a la incapacidad del lechón para regular su temperatura corporal (carece de grasa parda) y la escasez de pelo y de tejido subcutáneo, presenta en el momento del nacimiento un intervalo de neutralidad térmica muy estrecho, con una temperatura crítica inferior muy alta, de aproximadamente 32-35 °C. Para evitar que el lechón tenga que utilizar energía adicional para mantenerse caliente (comprometiendo su crecimiento y poniendo en peligro su vida), es necesario que durante sus primeros días se les proporcione una fuente de calor extra, bien con lámparas o placas calefactores, a las que se les irá disminuyendo la temperatura progresivamente a medida que avance el periodo de lactación.
- *Suministro de pienso de adaptación.* Durante aproximadamente las dos primeras semanas de vida y debido a la inmadurez de su tracto digestivo, el lechón sólo digiere las proteínas de la leche, lactosa, glucosa y grasa. A partir de la tercera semana del periodo de lactación se produce un cambio enzimático que le permite utilizar los nutrientes de los vegetales y asimilar almidones y otras proteínas.

Teniendo en cuenta que la producción láctea comienza a disminuir a partir de la tercera semana de lactación, es conveniente acostumbrar al lechón a consumir alimentos sólidos para incentivar en el aparato digestivo la producción de enzimas que actúen sobre nutrientes diferentes a los que aporta la leche.

- *Transferencia de lechones entre camadas.* Es importante igualar la camada en función del tamaño de los lechones y de la capacidad lechera de la cerda. Las camadas homogéneas y con un número no superior a los pezones de la madre alcanzarán una mayor tasa de supervivencia en los primeros días de vida.
- *Castración de los lechones.* Los lechones machos que no se vayan a destinar como reproductores deben ser castrados a una edad temprana para evitar el olor sexual que aparece en la pubertad.

Otras técnicas de manejo que mejoran la supervivencia de los lechones, tales como el corte de la cola, colocación de los lechones al mamar, crianza de lechones con alimento artificial, etc., no son tratadas aquí por alejarse excesivamente del tema principal del presente trabajo.

2.2.2 La glándula mamaria y el proceso de eyección de la leche.

La glándula mamaria se desarrolla durante las últimas fases de la gestación. Generalmente la producción de leche comienza tras el parto. Durante las últimas horas de gestación en la glándula mamaria se acumula una

secreción viscosa y altamente pigmentada, el calostro, cuyos componentes predominantes son globulina, albúmina y pequeñas cantidades de caseína (Csapó y col., 1996). Durante los primeros días de lactación el calostro tiene mayor contenido en sustancia seca y proteína y menos grasa y lactosa que la leche normal. Tras el periodo de ingesta de calostro la concentración de grasa y lactosa en la leche aumenta, mientras que la sustancia seca se mantiene constante debido a la disminución del contenido proteico (Klobasa y col., 1987).

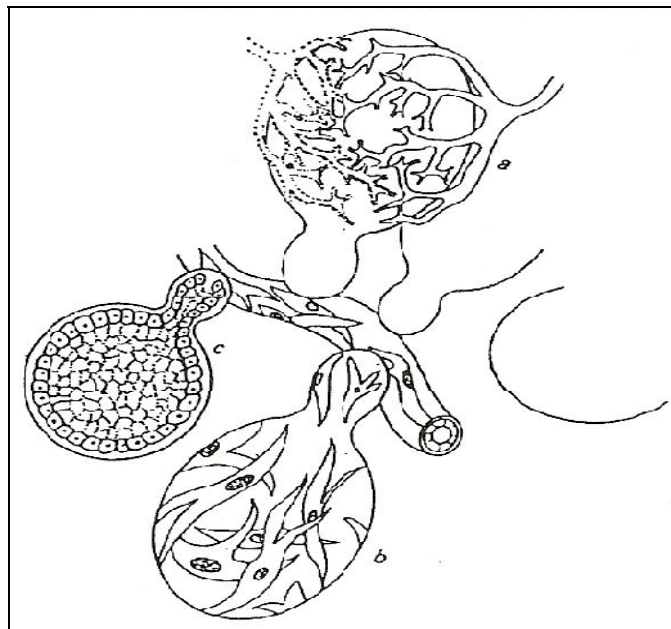


Figura 2.6. Estructura interna de la mama de cerda (Riopérez y col., 1998)

- a. vascularización capilar
- b. células mioepiteliales
- c. lumen epitelial de las células secretoras

La eyección de la leche en la glándula mamaria se produce de forma activa, y es controlada por un mecanismo neurohormonal. El proceso de eyección comienza con un impulso nervioso asociado al estímulo de masaje y

succión de los lechones. El estímulo nervioso viaja hasta el hipotálamo, provocando la liberación de oxitocina a la sangre en el lóbulo posterior de la glándula pituitaria. Cuando los lechones comienzan el masaje, se produce un aumento del nivel de oxitocina en sangre, que alcanza su cima a los 30 segundos antes de la eyección de la leche. La oxitocina estimula la contracción de las células mioepiteliales (ver figura 2.6) que envuelven a cada alveolo, generando una presión que conduce la leche desde el alveolo al pezón a través de un sistema de conductos (Xu, 2003). El proceso de amamantamiento en cerdos implica una compleja serie de reacciones fisiológicas y manifestaciones de comportamiento o conducta que por orden cronológico se pueden esquematizar de la siguiente manera (Algers B.,1993):

- Gruñido de los lechones y de la cerda → la cerda inicia el proceso de amamantamiento emitiendo un gruñido y exponiendo los pezones. Por su parte, los lechones también emiten un gruñido agudo que incita a la cerda a comenzar el amamantamiento.
- Masaje del pezón previo a la eyección de la leche → como he comentado anteriormente, la finalidad de este masaje es producir un estímulo nervioso que provoca la liberación de oxitocina a la sangre. La duración de este masaje previo a la eyección de la leche dura de 1 a 3 minutos y se ha sugerido (Fraser, 1980) que es una adaptación que asegura que todos los lechones disponen del tiempo necesario para acoplarse a su pezón correspondiente.

- Descarga de oxitocina → la magnitud del gruñido de la cerda está relacionada con la cantidad de oxitocina que se libera, de modo que el aumento en la frecuencia del gruñido indica a los lechones que deben dejar de masajear el pezón y comenzar a succionar.
- Breve eyección de leche → el tiempo que la leche está disponible para los lechones varía entre 10 y 20 segundos, consumiendo en ese corto espacio de tiempo una cantidad de aproximadamente 30 gramos de leche por lechón.
- Reanudación del masaje → Tras haber consumido la cantidad de leche correspondiente, los lechones inician de nuevo el masaje del pezón, aunque no es posible provocar una nueva eyección de leche inmediatamente. McBride (1963) sugiere que este masaje final no tiene como finalidad la obtención de más leche, sino que más bien se trata de una pauta de comportamiento para marcar el pezón con el olor propio de cada lechón. Esto se debe a que aproximadamente una hora tras el parto se establece la asignación de un pezón a cada lechón.

Bajo condiciones comerciales, la cerda da de mamar a sus lechones alrededor de 20 veces diarias durante varias semanas. Spinka y col. (1997) comprobaron que durante los tres primeros días tras el parto, la frecuencia con la que la cerda amamanta a los lechones varía entre 72 y 86 minutos.

2.2.3 Composición de la leche de cerda

La leche de cerda es un fluido complejo compuesto por una amplia gama de sustancias que sirven de sustento a los lechones.

En la figura 2.7 se puede observar la proporción relativa de los distintos nutrientes en la leche de cerda (Darragh y Moughan, 1998):

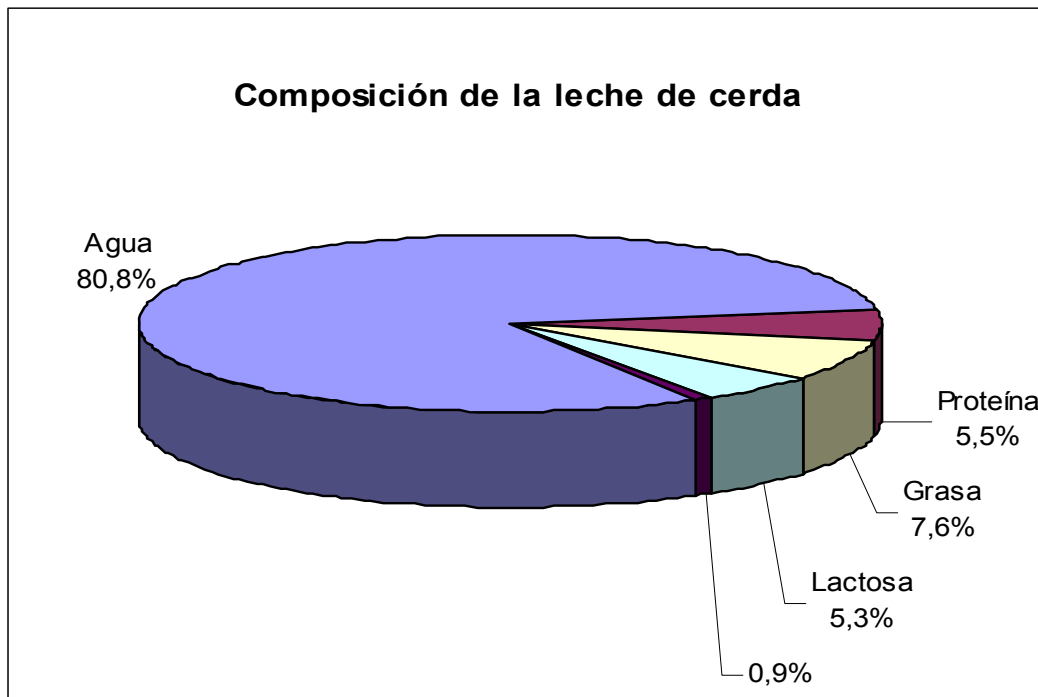


Figura 2.7. Fuente: Darragh y Moughan, 1998

De los constituyentes de la leche de cerda, la grasa es el que más contribuye a su entalpía de combustión (energía bruta), seguida de la proteína, y por último, de los carbohidratos, siendo la lactosa con mucho el carbohidrato

mayoritario, como puede observarse en los gráficos de las figuras 2.7 y 2.8, tomados de Darragh y Moughan (1998).

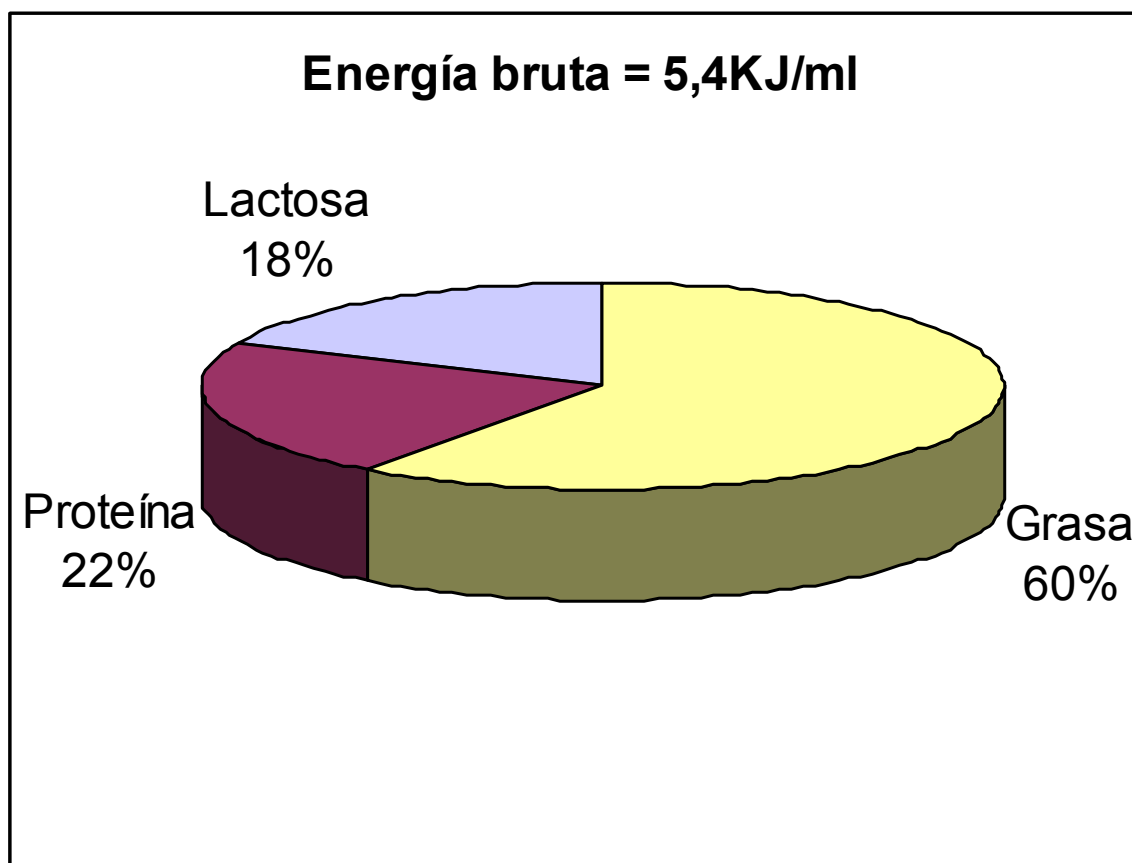


Figura 2.8. Contribución de los nutrientes de la leche de cerda a su entalpía de combustión (Darragh y Moughan, 1998).

En las tablas 2.3, 2.4, 2.5, 2.6 y 2.7 aparecen, respectivamente, la distribución de los componentes nitrogenados de la leche de cerda, el perfil aminoacídico de su proteína, la composición en ácidos grasos de la fracción lipídica, las cantidades presentes de vitaminas y minerales y el porcentaje de distribución de los tipos celulares de la leche, recogidos en la bibliografía que se cita.

| | |
|------------------------------|------------|
| Caseína | 47,3 |
| Proteínas del suero | 52,6 |
| Albúmina sérica | 8,2 |
| IgG | 1,6 |
| IgA | 11,7 |
| IgM | 2,7 |
| Otros | 28,4 |
| Nitrógeno no proteico | 0,14 |
| Total | 100 |

Tabla 2.3. Distribución de los componentes nitrogenados en la leche de cerda como porcentaje de los compuestos nitrogenados totales (The neonatal pig, Xu y Cranwell, 2003).

| Aminoácido | g AA /100 g leche fresca | g AA /100 g proteína |
|-----------------|--------------------------|----------------------|
| Ácido aspártico | 0,45 | 8,0 |
| Treonina | 0,24 | 4,2 |
| Serina | 0,29 | 5,3 |
| Ácido glutámico | 1,24 | 22,4 |
| Prolina | 0,61 | 1,09 |
| Glycina | 0,13 | 2,3 |
| Alanina | 0,16 | 2,8 |
| Cisteína | 0,09 | 1,5 |
| Valina | 0,22 | 3,9 |

| Aminoácido | g AA /100 g leche fresca | g AA /100 g proteína |
|--------------|--------------------------|----------------------|
| Metionina | 0,10 | 1,6 |
| Isoleucina | 0,17 | 2,9 |
| Leucina | 0,56 | 9,9 |
| Tirosina | 0,23 | 3,9 |
| Fenilalanina | 0,21 | 3,8 |
| Lisina | 0,40 | 7,0 |
| Histidina | 0,13 | 2,3 |
| Triptófano | 0,10 | 1,6 |
| Arginina | 0,31 | 5,5 |

Tabla 2.4. Composición aminoacídica de la fracción proteica de la leche de cerda, expresada en gramos de aminoácido (AA) por 100 g de leche fresca, o en gramos de aminoácido por 100 g de proteína (Csapó y col., 1996).

| Ácido graso | % |
|----------------------------------|----------|
| Ácido butírico (4:0) | 0,08 |
| Ácido caproico (6:0) | 0,09 |
| Ácido caprílico (8:0) | 0,03 |
| Ácido cáprico (10:0) | 0,01 |
| Ácido láurico (12:0) | 0,02 |
| Ácido mirístico (14:0) | 3,71 |
| Ácido miristoleico (14:1) | 0 |
| Ácido palmítico(16:0) | 37 |
| Ácido palmitoleico(16:1) | 9,1 |
| Ácido esteárico(18:0) | 6,02 |
| Ácido oleico(18:1) | 33 |
| Ácido linoleico(18:2) | 8,9 |
| Ácido linolénico(18:3) | 1,14 |
| Ácido araquidónico(20:4) | 0,51 |

Tabla 2.5. Composición en ácidos grasos de la leche de cerda expresada como porcentaje relativo del total de ésteres de ácidos grasos metilados (Csapó y col., 1996).

| Vitaminas (µg/ml) | | Minerales (mg/ml) | |
|-------------------------------|----------------------|-------------------|-----------------------|
| Vitamina A | 1,0 | Calcio | 1,84 |
| Vitamina D | $9,3 \times 10^{-3}$ | Fósforo | 1,39 |
| Vitamina E | 2,6 | Potasio | 0,82 |
| Vitamina K | 92×10^{-3} | Sodio | 0,43 |
| Vitamina C | 47 | Magnesio | 0,10 |
| Vitaminas del complejo B | | Hierro | $2,3 \times 10^{-3}$ |
| Tiamina (B ₁) | 0,7 | Zinc | $6,3 \times 10^{-3}$ |
| Riboflavina (B ₂) | 2,8 | Manganeso | $0,08 \times 10^{-3}$ |
| Ácido nicotínico | 7,4 | Cobre | $1,3 \times 10^{-3}$ |
| Ácido pantoténico | 4,6 | | |
| Ácido fólico | $3,9 \times 10^{-3}$ | | |
| Biotina | 14×10^{-3} | | |
| Cobalamina (B ₁₂) | $1,5 \times 10^{-3}$ | | |

Tabla 2.6. Concentración de vitaminas y minerales en la leche de cerda (Xu y Cranwell, 2003).

| Tipo celular | % | Tipo celular | % |
|--------------|------|---------------------|------|
| Neutrófilos | 40,7 | Eosinófilos | 0,4 |
| Macrófagos | 15,5 | Células epiteliales | 23,6 |
| Linfocitos | 19,2 | | |

Tabla 2.7. Distribución de los distintos tipos celulares en la leche de cerda transcurridos 4 días desde el parto. (Xu y Cranwell, 2003).

El contenido de aminoácidos y de grasa de la leche es, respectivamente, 2 y 4 veces superior al del pienso ofrecido. Además, la concentración y naturaleza de sus nutrientes se adecuan perfectamente a las condiciones fisiológicas y metabólicas del lechón. La leche posee inmunoglobulinas y numerosos factores de protección frente a las infecciones intestinales (Buxadé y Daza, 2001).

La composición de la leche varía entre las distintas razas porcinas conocidas, en función de las necesidades concretas del lechón de esa raza (Fahmy, 1972; Zou y col., 1992; Alston-Mills y col., 2000). Los datos que se conocen de la composición de la leche de cerda proceden de estudios realizados en animales de razas convencionales o mejoradas, pero no se conocen datos de composición de leche de cerda Ibérica. En la presente tesis se analiza la composición de la leche de cerda Ibérica, así como los cambios que se producen en su composición y en su producción a lo largo del periodo de lactación de 35 días.

A lo largo del periodo de lactación la composición de la leche también experimenta cambios. Así, el calostro presenta un mayor contenido en sólidos totales y proteínas, de las cuales la mayoría son IgG, y sin embargo, tiene menos contenido en grasa y en lactosa. A medida que avanza el periodo de lactación, el contenido en IgA aumenta, llegando a constituir el 40% del total de proteínas del suero (Klobasa y col., 1987). Los lípidos totales aumentan tras el parto, pero aproximadamente tras el tercer día de lactación hasta el destete tienden a disminuir, mientras que el contenido en lactosa aumenta

progresivamente durante todo el periodo de lactancia. (Csapó y col., 1996). Respecto a los ácidos grasos de 16 carbonos, aumentan a lo largo de la lactación mientras que los de 18 carbonos van disminuyendo a medida que éste transcurre (Coffey y col., 1982). Por otra parte, Atwood y Hartmann (1992) comprobaron en cerdos de razas mejoradas cómo aumentaba significativamente el contenido en grasa, sólidos totales y energía desde el inicio de un amamantamiento hasta el final del mismo.

Por su parte, los nutrientes de la dieta que la cerda recibe no afectan estrictamente a la provisión de nutrientes de la leche, debido a la movilización de las reservas corporales de la cerda (Klaver y col., 1981; Clowes y col., 1998; Pluske y col., 1998) excepto cuando estas reservas corporales se agotan, viéndose afectados la producción de la leche y por lo tanto, la ganancia de peso de la camada (Noblet and Etienne, 1986).

▪ **2.2.4 Producción de leche y crecimiento de los lechones**

La producción de leche está relacionada con la genética de la cerda, el tamaño de la camada y el peso de los lechones (King y col., 1997), aunque también influyen factores adicionales, tales como el número de partos de la cerda y la fase concreta del periodo de lactación (ARC, 1981).

Según Elsley (1971), para un periodo de lactación de 8 semanas, la producción de leche de la cerda de razas convencionales es de

aproximadamente 6,25 kg/día, que se corresponde con una ingesta por lechón de 821 g/día.

A lo largo de la lactación, la producción láctea varía, ya que alcanza el pico de máxima producción a la tercera semana tras el parto, a partir de la cual se mantiene constante y comienza a decaer a partir de la sexta semana. (Etienne y col., 1998). Por ello, cuando se lleva a cabo un destete superior a un periodo de lactación de 3 semanas, es conveniente complementar la leche materna con un pienso de arranque o iniciación para conseguir que los animales alcancen su máximo potencial de crecimiento al finalizar el periodo de lactancia.

La cantidad de leche necesaria para aumentar 1 gramo de peso vivo varía a lo largo de la lactación. Pluske y col., (1998) observaron en lechones de raza magra, cuyas madres habían sido alimentadas ad libitum durante toda la lactación, unos índices de conversión de 3,76 y 3,90 g leche/g ganancia de peso, si las medidas se realizaban en un intervalo de lactación medio (d 10-15) o tardío (d 21-25), respectivamente. Por su parte, la ganancia de peso medio diaria de los lechones en la lactación media fue de 280 g/d, mientras que en la lactación tardía disminuyó a 269 g/d. Esto nos indica que cada lechón consume al día aproximadamente 1 kg de leche diario. Por otra parte, el ARC (1981), basándose en los datos de Elsley (1971), asume una producción de leche de 6,57 kg/día para una camada de 8 lechones durante un periodo de 8 semanas, lo que supone una ingesta media diaria de 821 g de leche/lechón.

El crecimiento del lechón Ibérico durante el periodo de lactancia es menor que el observado para genotipos porcinos convencionales o magros, ya que a las tres semanas de edad, su peso medio oscila entre 3,67 y 4,55 Kg (Laguna Sanz, 1998), mientras que los lechones de genotipos mejorados, bajo condiciones de explotación y edad semejantes, alcanzan valores más elevados, comprendidos entre 4,65 - 5,87 Kg (Lewis y col., 1978; Coffey y col., 1982; Noblet y Etienne, 1986). Sin embargo, los pesos al nacimiento de los lechones Ibéricos no difieren en gran medida del de los lechones de razas mejoradas y además, el tamaño de camada, factor que podría limitar la capacidad de crecimiento del lechón, es menor, por lo que tampoco supone un efecto negativo en su ganancia de peso. Cabe, por lo tanto, plantearse la posible existencia de otras causas responsables de esa menor tasa de crecimiento:

- Producción de leche insuficiente.
- Composición nutritiva y contenidos energéticos inadecuados para satisfacer los requerimientos nutricionales de los lechones.
- Limitación en la utilización metabólica de los nutrientes por parte del lechón Ibérico que condicione su crecimiento.

En la presente Tesis se analizan estos factores con el fin de identificar las causas de la menor tasa de crecimiento que presenta el lechón Ibérico con respecto al lechón de capa blanca.

2.2.5 Aproximación al conocimiento de las necesidades nutricionales del lechón lactante.

A medida que avanza el periodo de lactación, la ganancia de peso del lechón va asociada a cambios en su composición corporal. El lechón recién nacido presenta un aspecto huesudo con una cabeza abombada y un valor muy elevado de su superficie corporal por unidad de masa corporal. Conforme aumenta de peso con la edad, el lechón se vuelve más musculoso y aumenta su proporción de grasa corporal. En la siguiente tabla se muestran los cambios en la composición corporal expresados como porcentaje del peso vivo en lechones de capa blanca durante un periodo de lactación de 4 semanas.

| Edad (días) | 0 | 2 | 7 | 14 | 28 |
|--------------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| % Agua | 83 | 80 | 73 | 67 | 64 |
| % Grasa | 1 | 2 | 10 | 15 | 18 |
| %Proteína | 12 | 14 | 14 | 15 | 15 |
| % Cenizas | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 |

Tabla 2.8. Fuente: The neonatal pig, pág 187.

Los lechones en lactación poseen una alta relación superficie/volumen corporal y presentan un rápido crecimiento de sus tejidos, por lo que sus requerimientos energéticos son elevados. El NRC (1998) recomienda para

lechones de peso comprendido entre 3 y 20 Kg, y por tanto, durante las fases de lactancia y postdestete, una dieta que contenga 14,167 KJ ED/Kg o 13,604 KJ EM/Kg.

Con respecto a sus necesidades proteicas, en el lechón en crecimiento, la proteína de la dieta se utiliza principalmente para sintetizar nueva proteína, y de modo muy limitado para funciones de mantenimiento, siempre que el aporte de energía de la dieta sea el adecuado. Teniendo en cuenta que durante esta fase el animal está en constante crecimiento, sus necesidades proteicas son más elevadas que en etapas posteriores de la cría. El NRC (1998) establece unos requerimientos proteicos del 26% de la materia seca cuando el peso del lechón oscila entre 0 y 5 Kg y del 23,7% de proteína, para lechones de peso vivo comprendido entre 5 y 10 Kg. Por su parte, el ARC establece unos requerimientos proteicos de 16 g de proteína/MJ ED para lechones con edades comprendidas entre 0 y 3 semanas y 14 g de proteína/MJ ED para lechones con edades comprendidas entre 3 y 8 semanas.

Como he comentado anteriormente, el valor nutricional de la proteína depende fundamentalmente de su composición en aminoácidos, de modo que aquella proteína cuyo balance de aminoácidos pueda satisfacer todos los requerimientos de aminoácidos del animal, se conoce como proteína ideal. El perfil de aminoácidos de la leche de cerda puede ser utilizado como referencia para conocer cuáles son los requerimientos del lechón en crecimiento (Darragh and Moughan, 1998). Durante las primeras semanas de vida, las necesidades nutricionales para el crecimiento del lechón superan con creces sus

necesidades de mantenimiento debido a la alta tasa de deposición proteica y síntesis de nuevos tejidos. Es por ello que la composición aminoacídica del tejido del lechón guarda una estrecha relación con la composición aminoacídica de la proteína ideal para ese periodo en concreto. La composición en aminoácidos que presenta la leche se aproxima bastante a la composición aminoacídica de los tejidos del lechón, y por lo tanto, al concepto de proteína ideal en el lechón durante esa fase de vida (tabla 2.9).

| | g AA/100g CP | |
|--------------------------------|---------------|------------|
| | Piglet tissue | Sow's milk |
| Lisina | 6,85 | 7,58 |
| Metionina | 1,8 | 1,73 |
| Metionina + cisteína | 3,1 | 3,29 |
| Treonina | 3,76 | 4,15 |
| Triptófano | - | 1,31 |
| Isoleucina | 3,58 | 4,11 |
| Leucina | 7,11 | 8,56 |
| Histidina | 2,68 | 2,76 |
| Fenilalanina | 3,73 | 3,97 |
| Fenilalanina + tirosina | 6,46 | 8,46 |
| Valina | 4,79 | 5,35 |

Tabla 2.9. Fuente: ARC, 1981

Las tablas 2.10 y 2.11 muestran las recomendaciones del ARC y del NRC respecto a la composición aminoacídica de la proteína para el lechón lactante o tras el destete. Dicha composición aparece expresada bien como concentración de aminoácido en la proteína de la dieta o en proporción a su contenido en lisina.

| % | ARC (1981) | | NRC (1998) | |
|--------------------------------|-------------|-------------|------------|-----------|
| | 0-3 semanas | 3-8 semanas | 3 a 5 Kg | 5 a 10 kg |
| Lisina | 1,12 | 0,98 | 1,5 | 1,35 |
| Metionina + Cisteína | 0,56 | 0,49 | 0,86 | 0,76 |
| Treonina | 0,67 | 0,59 | 0,98 | 0,86 |
| Triptófano | 0,16 | 0,14 | 0,27 | 0,24 |
| Isoleucina | 0,61 | 0,53 | 0,83 | 0,73 |
| Leucina | 1,12 | 0,98 | 1,5 | 1,32 |
| Histidina | 0,37 | 0,32 | 0,48 | 0,43 |
| Fenilalanina + tirosina | 1,07 | 0,94 | 1,41 | 1,25 |
| Valina | 0,78 | 0,69 | 1,04 | 0,92 |

Tabla 2.10. Composición aminoacídica de la proteína recomendada para el lechón durante la lactancia y el postdestete por el ARC (1981) y el NRC (1998).

| | ARC | | NRC | | Piglet tissue | Sow's milk |
|--------------------------------|-------------|-------------|----------|-----------|---------------|------------|
| | 0-3 semanas | 3-8 semanas | 3 a 5 Kg | 5 a 10 Kg | | |
| Lisina | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| Metionina + Cisteína | 50,0 | 50,0 | 57,3 | 56,3 | 45,0 | 43,0 |
| Treonina | 59,8 | 60,2 | 65,3 | 63,7 | 55,0 | 55,0 |
| Triptófano | 14,3 | 14,3 | 18,0 | 17,8 | - | 17,0 |
| Isoleucina | 54,5 | 54,1 | 55,3 | 54,1 | 52,0 | 54,0 |
| Leucina | 100,0 | 100,0 | 100,0 | 97,8 | 104,0 | 113,0 |
| Histidina | 33,0 | 32,7 | 32,0 | 31,9 | 39,0 | 36,0 |
| Fenilalanina + tirosina | 95,5 | 95,9 | 94,0 | 92,6 | 94,0 | 111,0 |
| Valina | 69,6 | 70,4 | 69,3 | 68,1 | 70,0 | 71,0 |

Tabla 2.11. Composición aminoacídica de la proteína recomendada para el lechón durante la lactancia y el postdestete por el ARC (1981) y el NRC (1998), expresada como concentraciones de aminoácidos en proporción a la lisina.

3. Aspectos Metodológicos

La metodología empleada en los distintos ensayos y los análisis físico-químicos pertinentes se encuentra recogida en las publicaciones que forman parte de la presente Tesis, por lo que creo no procede extenderse en la explicación de las mismas. No obstante, cabe detenerse en comentar algunos aspectos metodológicos, por tratarse de modificaciones propias adaptadas a las circunstancias del propio ensayo o de nuestro laboratorio.

3.1 ENSAYO DE LACTACIÓN

Para determinar la eficiencia con la que el lechón Ibérico utiliza los nutrientes, particularmente la proteína, y la energía que le proporciona la leche materna, se cuantificó la deposición de proteína, grasa y energía mediante el método de los sacrificios comparados. Este método consiste en someter a los animales a un tratamiento nutricional determinado durante un periodo de tiempo concreto y observar los cambios que se producen en la composición corporal del animal. Finalmente se relaciona la ingesta de nutrientes con la deposición de nutrientes en el organismo del animal. Para ello se sacrifica al inicio del ensayo un número determinado de animales, elegidos al azar de entre los que serán sometidos al tratamiento experimental, y se asume que su composición corporal es similar a la composición corporal inicial de los animales que serán sacrificados al final del ensayo. Se procede entonces al análisis de su contenido en nutrientes y energía. La deposición de nutrientes se

obtiene por diferencia entre sus cantidades absolutas en el animal al inicio (estimada como se ha indicado) y término del ensayo.

En nuestro caso, el estudio comienza con el nacimiento de los lechones y finaliza tras 34 días de lactancia. El tratamiento aplicado a los animales es el consumo de leche materna como único alimento durante dicho periodo.

3.1.1 Medida de la producción de leche.

Durante años, la estimación para la producción de leche en cerdas se ha realizado utilizando diversos métodos. Hartman y Pond (1960) diseñaron una máquina ordeñadora que colectaba la leche de forma simultánea de todas las glándulas funcionales, tras la administración de oxitocina a la cerda, pero este procedimiento es poco fiable porque sólo se puede llevar a cabo en cerdas muy tranquilas y, además, hay que realizarlo con mucho cuidado porque inquieta mucho a las cerdas, por lo que su producción láctea puede verse afectada.

Otro método empleado ha sido la estimación de la producción de leche a partir de la ganancia de peso semanal de los lechones (Lewis et al., 1978), asumiendo un valor determinado para el índice de conversión. Este procedimiento está sujeto a un gran error ya que el crecimiento de los lechones se ve afectado no sólo por la producción de leche de la cerda, sino también por condiciones genéticas y ambientales.

Una técnica mucho más fiable, ya que no perturba el proceso natural de la lactación, es la administración a los lechones vía intramuscular de agua marcada con un isótopo de hidrógeno. Si asumimos que las únicas fuentes de agua que éstos toman son el calostro y la leche, conocida la cantidad de agua en la leche mediante los correspondientes análisis, la dilución del isótopo en el agua corporal total nos indicará la ingesta de leche de los lechones que forman la camada (MacFarlane et al., 1969; Pettigrew et al., 1987). Independientemente de las contaminaciones cruzadas entre lechones vía sus secreciones naturales, la principal limitación que presenta este método es que a medida que avanza la lactación, los lechones tienden a consumir el agua que se les suministra, por lo que no puede llevarse a cabo en periodos de lactación muy prolongados (Yang et al., 1980).

El método más utilizado para estimar la producción de leche en cerdas es el de la doble pesada o “Weigh-suckle-weigh” (Speer and Cox, 1984; Noblet and Ethienne, 1986), que consiste en pesar a los lechones antes y después de mamar, siendo la diferencia entre ambos pesos la cantidad de leche ingerida. La producción de leche total se estimaría tomando varias medidas a intervalos repetidos de tiempo y extrapolando la producción a 24 horas. En la presente Tesis doctoral se adoptó esta técnica basándonos en el trabajo realizado por Noblet y Ethienne (1986), modificado en algunos aspectos. A continuación, se describen las particularidades introducidas en la metodología empleada para estimar la producción de leche de la cerda y la ingesta de leche y nutrientes de los lechones a lo largo del periodo de lactación.

3.1.1.1. Pesada de los animales

Los animales se pesaron individualmente al nacimiento, y a partir del 5º día de lactación, se pesaron cada 7 días. Cada día de medida se llevaron a cabo 8 determinaciones con un intervalo de 75 minutos entre determinaciones sucesivas. Cada determinación se llevó a cabo de la siguiente manera:

Antes de realizar la primera determinación los lechones se separaban de la madre, quedando alojados en un recinto en el que disponían de acceso libre al agua. Transcurrida una hora, los animales se colocaban sobre una superficie fría para incitarles a orinar y defecar.



Figura 3.1. Placas de hielo para mantener el frío. Superficie de metal protegida por plástico. Cerditos sobre superficie fría.

A diferencia de lo que proponen Noblet y Ethienne (1986), cada lechón se pesó individualmente, con el fin de determinar su ingesta particular de leche. Una vez que todos los lechones habían sido pesados, se colocaban junto a su madre, de modo que pudieran mamar. Mientras se encontraban mamando, los lechones no tenían acceso al agua, de modo que el aumento de peso se debía

exclusivamente a la ingesta de leche. En cada lactancia los lechones permanecieron junto a su madre durante 7-10 minutos. Al terminar de mamar, se colocaban los lechones en una caja de plástico previamente tarada y se pesaban todos a la vez. Se obtenía de este modo el peso total de la camada. A continuación, se sacaba de la caja a los cerditos uno a uno, anotando cada vez el peso de la caja con los lechones que quedaban en ella. Si durante el proceso se observaban restos de orina y heces y no se sabía a qué animal pertenecían, se prorrateaba su peso entre toda la camada. Los cerditos que se sacaban de la caja se volvían a colocar en el recinto anterior, para que permanecieran separados de su madre hasta la siguiente determinación. Este procedimiento se repitió hasta haber obtenido 8 determinaciones.



Figura 3.2. Lechones ibéricos ingiriendo leche de su madre. Recogida de los lechones justo después de mamar.

3.1.1.2 Cálculo de la ingesta de leche

A partir de los datos recopilados, la ingesta de leche de cada cerdito se calculó como la diferencia entre el peso del lechón antes de mamar (p , g) y el

peso del lechón después de mamar (p', g) más un factor de corrección. El hecho de que haya que aplicar este factor de corrección se debe a que mientras que los animales están mamando, se produce en ellos una pequeña pérdida de peso debido a pérdidas por evaporación y actividad física durante dicho proceso, por lo que de no aplicar dicha corrección, estaríamos subestimando la ingesta de leche individual de cada animal (Klaver et al., 1981).

Para estimar el valor del factor de corrección se realizaron observaciones complementarias en lechones en lactación con edades comprendidas entre 1 y 34 días, que se llevaron a cabo colocando un número de animales dentro de un contenedor y registrando el peso total de los mismos a tiempos determinados. Los lechones permanecían en el contenedor bajo observación durante un periodo de tiempo que oscilaba entre 25 y 40 minutos, de modo que se pudiera evaluar su actividad (baja, moderada o alta). Transcurrido dicho tiempo, el contenedor con los lechones se pesaba de nuevo. Este proceso se repitió en numerosas ocasiones. Una vez obtenido un número suficiente de observaciones, se calculó la pérdida de peso y expresó en $g/Kg^{0.75} \cdot min$. Se seleccionaron aquellas observaciones en las que la actividad de los lechones había sido calificada de moderada a alta, ya que aparentemente se asemejaba más a la actividad que mostraban los lechones durante la lactancia.

$$Factor\ corrección = \frac{(na \times PROMEDIO(alta)) + (nm \times PROMEDIO(moderada))}{N}$$

donde:

$na \rightarrow$ nº de observaciones con actividad alta.

$nm \rightarrow$ nº de observaciones con actividad moderada.

PROMEDIO (alta) \rightarrow media de los valores observados con actividad alta.

PROMEDIO (moderada) \rightarrow media de los valores observados con actividad moderada.

$N \rightarrow$ nº total de observaciones.

De ese modo se obtuvo que durante la lactación los cerditos perdían 0,1271g/Kg^{0,75}.min., un valor menor al obtenido por Noblet y Ethienne (1986), cuyas observaciones estimaban dicho valor en 0,210g/Kg^{0,75}.min.

Una vez obtenido el factor de corrección, la ingesta de leche individual de cada lechón se calculó como:

$$Ingesta\ de\ leche = (p - p') + 0,1271 \times \left(\frac{P}{1000} \right)^{0,75} \times \min\ mamando$$

De las 8 observaciones que se realizaron en cada día de medida, las dos primeras se descartaron ya que fueron consideradas como de adaptación de los lechones al manejo al que eran sometidos y, por lo tanto, para la estimación de la ingesta de leche sólo se utilizaron las 6 mediciones restantes. El valor de ingesta obtenido en el tiempo que transcurrió desde la tercera a la

octava medición, se extrapoló a 24 horas, obteniendo de ese modo la ingesta total de cada lechón a lo largo de ese día. Este procedimiento se realizó en cada uno de los días en los que hubo determinaciones de la ingesta, es decir, los días 5, 12, 19, 26 y 34 del periodo de lactación. La ingesta total de cada lechón durante los 34 días de lactación se calculó asumiendo que la producción cambiaba linealmente entre las sucesivas medidas.

Teniendo en cuenta que los primeros días tras el nacimiento los animales ingieren calostro, se llevó a cabo una estimación de la ingesta de los lechones en el día dos, mediante observación de la ingesta en un grupo adicional de 6 lechones siguiendo el mismo método explicado anteriormente. Una vez obtenida dicha estimación, se asumió que la producción de leche entre el día 2 y 5 aumentaba de manera lineal, y por lo tanto, el cálculo de la ingesta durante los dos primeros días tras el nacimiento se obtuvo mediante extrapolación.

3.1.1.3 Cálculo de la ingesta de nutrientes y energía

- Recolección y análisis de las muestras de leche

Con el fin de determinar la ingesta de nutrientes de los lechones, se llevó a cabo la recolecta de muestras de leche y su posterior análisis nutricional. Para ello, se seleccionaron 8 cerdas nodrizas, sometidas a idénticas

condiciones experimentales que las cerdas destinadas a la determinación de la producción de leche, a las que se les extrajo mediante ordeño manual distintas muestras de leche a lo largo del periodo de lactación, los días 5, 12, 19, 26 y 34 posteriores al parto. El proceso de extracción de leche de las cerdas se describe a continuación:

Dos horas antes de proceder al ordeño de cada cerda, se le retiraban sus lechones con el fin de evitar que éstos vaciaran el contenido de las mamas, y así poder obtener una cantidad de leche suficiente. Transcurridas estas dos horas, a la cerda se le inyectaba 10 U.I. de oxitocina. Aproximadamente un minuto tras la inyección, la hormona surtía efecto y se procedía al ordeño manual de todas sus glándulas mamarias funcionales, obteniéndose en cada ordeño aproximadamente 200 ml de leche. Con el fin de que la cerda facilitara el proceso de ordeño, a primera hora de la mañana se le daba solamente la mitad de la ración de pienso que le correspondía, y mientras se realizaba el ordeño, se le suministraba el resto. El proceso de eyección de la leche duraba sólo unos minutos, por lo que para poder ordeñar todas las glándulas funcionales se necesitó apoyo de personal. Las muestras de leche así obtenidas se almacenaron en botellas de plástico opacas a -20 °C hasta que fueron analizadas.

Para llevar a cabo el análisis de las muestras, primero se descongelaron éstas a temperatura ambiente, y después se llevó a cabo su reconstitución mediante agitación suave en un baño a una temperatura de aproximadamente 38°C (Bibby Scientific, SBS30, UK) combinándola con los efectos de un baño de

ultrasonidos (P. Selecta, mod. 514; Spain) para así obtener una muestra homogénea.

Una vez que la leche había sido reconstituida, se tomó una alícuota que se liofilizó (Virtis Genesis mod. SQ25EL) para llevar a cabo los análisis de sólidos totales, cenizas, energía bruta y aminoácidos. Por su parte, la determinación de proteína bruta ($N \text{ total} \times 6,38$), proteína verdadera y grasa se determinó en alícuotas de leche fresca. La lactosa se estimó como la diferencia entre la materia seca y la proteína, grasa y cenizas.

Por otra parte, y asumiendo que durante las 48 horas tras el parto, los animales ingieren calostro, se llevó a cabo la recolecta de muestras de calostro en cerdas en las que el tiempo transcurrido tras el parto era de entre 1 a 48 horas. A estas muestras se le realizaron análisis de sólidos totales, proteína bruta, grasa y cenizas. Al igual que en las muestras de leche, la lactosa se estimó por diferencia.

-Cálculo de la ingesta de nutrientes.

Una vez obtenida la composición de la leche en cada día de muestreo y del calostro, se asumió que tal composición era la misma que la de la leche consumida por los animales a los que se les estimó su ingesta. De ese modo, para obtener la ingesta de nutrientes de cada lechón se relacionó la ingesta de leche consumida en cada periodo de muestreo con la composición de la leche obtenida en el muestreo realizado el día que finalizaba el periodo estudiado, es

decir, a la ingesta de leche consumida entre los muestreos realizados los días 5 y 12 de lactación, se le asignaba la composición nutricional de la leche correspondiente al día 12 de lactación, y así, hasta completar todos los periodos estudiados a lo largo del ensayo. Por otra parte, y teniendo en cuenta que la secreción de calostro se produce aproximadamente durante las primeras 48 horas tras el parto, se asumió que los nutrientes ingeridos por los lechones los dos primeros días tras su nacimiento se correspondían con la composición nutritiva del calostro. Siguiendo el criterio utilizado para el resto de periodos, para calcular la ingesta de nutrientes los días 3, 4 y 5 se utilizó la composición de la leche a día 5. De ese modo se obtuvo la ingesta de nutrientes correspondiente a cada periodo de la lactación estudiado.

3.2 ESTIMACIÓN DE LA INCORPORACIÓN DE LISINA MICROBIANA A LOS TEJIDOS DEL ANIMAL

La lisina, junto a la treonina, son aminoácidos que no pueden incorporar N inorgánico mediante transaminación (Bender, 1985). Por lo tanto, si se detecta ^{15}N - lisina en los tejidos de un animal cuya dieta contiene ^{15}N ligado a una fuente inorgánica, ésta ha de proceder necesariamente de su biosíntesis por la microbiota intestinal. Este es el fundamento de la estimación de la incorporación de lisina (y por extensión, del resto de aminoácidos) microbianos a los tejidos del hospedador. Para aplicar la técnica se adiciona a la dieta de los animales una fuente inorgánica de ^{15}N , que en nuestro ensayo fue sulfato

amónico marcado con dicho isótopo del N, que los animales consumen de forma controlada durante el experimento. Transcurrido un tiempo en estas condiciones, se procede al sacrificio de los animales y al aislamiento de tejidos y contenido intestinal para proceder al análisis y detección del aminoácido marcado.

3.2.1 Preparación y análisis de muestras

- Aislamiento de las bacterias del contenido intestinal

A partir de las muestras de contenido intestinal recogidas al sacrificar el animal e inmediatamente congeladas hasta su análisis, se aíslan las bacterias presentes en el mismo, que nos indicarán el enriquecimiento en ^{15}N -lisina en el compartimento o “pool” precursor de la lisina de origen bacteriano que podamos encontrar incorporada a los tejidos del animal. El procedimiento para extraer el “pellet” bacteriano es el siguiente:

1. Se descongela la muestra de contenido intestinal y se conserva en refrigeración a 4° C hasta el siguiente paso.
2. Preparación de solución salina (0,9% de ClNa) con 0,1% de metilcelulosa: Se pesan 13,5g de ClNa y 1,5g de metilcelulosa y se enrasan a 1,5 l de agua desionizada en un vaso de precipitado.

3. Se toma la mayor cantidad posible de contenido de digestivo y se mezcla con 3 volúmenes de la solución preparada anteriormente en un frasco de 500ml. Se deja la solución en refrigeración a 4°C durante 24h.
4. Se homogeniza la muestra con una batidora. Se mezcla 4 veces consecutivas durante 30 segundos cada una. Se trasvasa la muestra a los recipientes de centrifugación, sin sobrepasar un volumen de aproximadamente 180 ml. Se equilibra el peso de los recipientes con agua desionizada en una balanza.
5. Se centrifuga (Sorvall RC 6 Plus) a 500g y a 4°C durante 10 minutos.
6. Se toma el sobrenadante y se vuelve a centrifugar a 20,000g y 4°C durante 20 minutos.
7. Se elimina el sobrenadante y se añade sobre el *pellet* un volumen similar de agua desionizada al utilizado en la centrifugación anterior. Se centrifuga de nuevo a 20,000g y 4°C durante 20 minutos.
8. Se elimina el sobrenadante y se obtiene un residuo que constituye el *pellet* bacteriano.

Para facilitar su recuperación se introducen los tubos con el *pellet* en el congelador unos 10 minutos. Una vez haya solidificado, esperamos un

minuto y se traspasa el *pellet* a una placa Petri. Se tapa la base de la placa con parafilm y se tapa y congela hasta su liofilización.

Los tratamientos comunes para las muestras de tejidos (hígado y músculo) y *pellets* bacterianos fueron:

- Liofilización

La desecación de las muestras de músculo, hígado y pellets bacterianos se realizó por liofilización (Virtis Genesis mod. SQ25EL). Para las muestras de mayor tamaño, como músculos e hígado, se utilizaron recipientes de plástico en los que se colocaron aproximadamente 400g de muestra. Las muestras de pellet bacteriano se liofilizaron en placas de Petri.

- Determinación de N total mediante combustión

Esta determinación se realizó en el equipo TruSpec CN (Leco Corporation, USA), un instrumento que determina el carbono y el nitrógeno contenido en una amplia variedad de materiales, incluidos alimentos, piensos, semillas oleaginosas, fertilizantes, carnes y suelos. Una de las ventajas de esta técnica es que permite obtener el contenido en nitrógeno partiendo de cantidades muy pequeñas de muestra (mg), además de su rapidez, ya que permite obtener la determinación en pocos minutos.

El instrumento está conectado a un ordenador externo y utiliza un programa de *software* para controlar el funcionamiento del sistema y la gestión de datos.

Hay tres fases durante un ciclo de análisis: purga, combustión y análisis.

Durante la fase de combustión, la muestra se reduce en un horno caliente (950°) para una rápida combustión. Los productos de la combustión pasan a través de un segundo horno para la posterior oxidación y eliminación de partículas, y con un enfriador termoeléctrico se elimina la humedad. Los gases de combustión son recogidos posteriormente.

En la fase de análisis se inyecta oxígeno, que se mezcla con los gases de combustión. Se produce homogenización de los gases de combustión. Una celda de conductividad térmica determina el contenido en nitrógeno en dichos gases y, consecuentemente, en la muestra analizada. El resultado final se muestra como porcentaje en peso o en partes por millón. A partir del contenido en N total estimamos la proteína bruta de la muestra multiplicada por el factor 6,25.

- Preparación para la determinación de ^{15}N -lisina por espectrometría de masas.

Las técnicas seguidas en este apartado están basadas en el protocolo descrito por Belenguer y col. (2005), adaptadas a nuestro laboratorio.

- *Hidrólisis ácida*

Una vez conocida la proteína presente en las muestras de tejidos y *pellets* bacterianos se procede a la hidrólisis ácida de muestras de tamaño

adecuado para que tenga lugar la ruptura de las cadenas peptídicas y la liberación de los aminoácidos que las forman. Partimos de una cantidad de muestra de 40 a 45 mg, lo que equivale a aproximadamente 25 mg de proteína en tejidos y 15 mg de proteína en los *pellets* de bacterias. Para la hidrólisis se emplean 8 y 5 ml de HCL 6N (obtenido por ebullición constante) respectivamente, en las muestras de tejidos y *pellets*. La hidrólisis se realiza en tubos de vidrio Pirex alojados en un termobloque a 110 °C durante 24 horas. Este tratamiento rompe las uniones peptídicas y libera los aminoácidos individuales. Además, la glutamina y asparragina se hidrolizan a glutamato y aspartato, respectivamente, y se destruye casi completamente el triptófano. Tras la hidrólisis, se filtran las muestras con filtro de jeringa desechable de 0,45 μ y se toma una alícuota de 1 ml, que se trasvasa a tubos de plástico para llevar a sequedad.

- *Secado*

El secado de la muestra se realiza en un concentrador-evaporador mediante centrifugación y aplicación de vacío (SpeedVac, Thermo Savant Instruments Inc.). El tiempo necesario para el secado es aproximadamente 2 horas a 70°C. Después, se reconstituye la muestra en 1,5 ml de CLH 0,1N.

- *Cromatografía de intercambio iónico*

La solución con los aminoácidos obtenidos a partir de la hidrólisis ácida de la proteína se somete a una cromatografía de intercambio iónico para eliminar las sales presentes en la misma. La mezcla de aminoácidos que presenta un pH ácido (por tanto su carga es positiva) se hace pasar por una

columna que contiene resina a la cual está unido fuertemente un grupo aniónico. A él se unen los aminoácidos que están cargados positivamente. A medida que el pH se incrementa los aminoácidos pierden sus protones ionizables; primero de su grupo α -carboxilo, luego de las cadenas laterales y finalmente de los grupos amino, de tal manera que se transforman en moléculas neutras y, a medida que adquieren carga negativa, son liberados de la resina. En este caso todos los aminoácidos eluyen a la vez, puesto que se aplica una solución fuertemente básica (NH_4OH 2M).

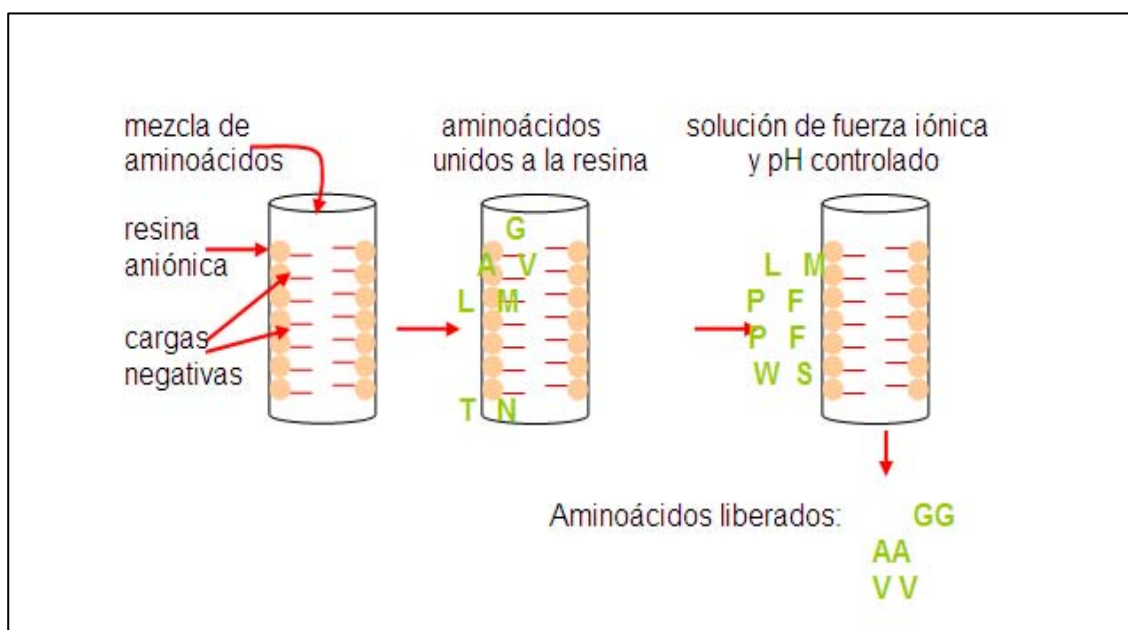


Figura 3.3. Representación del funcionamiento de una resina cromatográfica de intercambio catiónico.

Fuente: <http://laguna.fmedic.unam.mx/~evazquez/0403/composicion%20aminoacidos.html>

Las columnas cromatográficas se preparan colocando en ellas aproximadamente 0,5-1 ml de la resina de intercambio iónico (Dowex 50WX8-

200, Sigma-Aldrich Química S.A.). Primero se añade 1 ml de agua milli-Q a la resina y se deja pasar libremente por la misma. Después se hace pasar la muestra, que debe estar en solución ácida. A continuación se realizan tres lavados consecutivos, cada uno con 1 ml de agua milli-Q, en los que se descarta el eluyente. Se añaden 2 ml, adicionados de 1 en 1, de NH_4OH 2M y se recoge el eluato en un vial de vidrio. Posteriormente se añade 1 ml más de agua milli-Q, para completar la elución. El contenido de los viales se trasvasa a tubos de plástico para llevarlo a sequedad en SpeedVac (4-5 horas, 70°C).

- *Derivación*

La muestra seca se reconstituye en 1 ml de agua milli-Q y se toma una alícuota que contenga aproximadamente 100 nmoles de aminoácido (en nuestro caso aproximadamente 120 μl), que se somete a derivación. El reactivo de derivación es una mezcla de metildibutilsililtrifluoroacetamida (MTBSTFA) con acetonitrilo (1:1).

Se coloca en un vial de vidrio con fondo cónico (en V), una alícuota de muestra o estándar equivalente a 100 nmoles de aminoácido. Se lleva a sequedad a 60°C en el concentrador. Después se añaden 100 μl de diclorometano. Se mezcla y, a continuación, se vuelve a secar en el concentrador a 60°C . Posteriormente se agrega a cada vial 100 μl de la mezcla de derivación (MTBSTFA: acetonitrilo). Se tapan los viales y se colocan en el termobloque a 90°C durante 20 minutos. Se dejan enfriar y se transfieren a un vial para cromatografía de gases. La muestra o el estándar ya están listos para

su análisis. Cada μl debe contener aproximadamente 1nmol de cada aminoácido.

- *Preparación de soluciones patrón de ^{15}N -lisina para el GC-C-IRMS*

Se preparan mezclando cantidades adecuadas de una solución de lisina marcada (α - ^{15}N -lisina, 95-99 átomos %, Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) con otra solución de lisina sin marcar, es decir, en la que la abundancia de ^{15}N es la natural, según el siguiente esquema:

| Estándar 1 (Abundancia natural) | Lisina (g) | Agua (g) | Átomos % en exceso |
|------------------------------------|------------|----------|--------------------|
| | 0,045 | 100 | 0 |

| Estándar 2 (Enriquecido) | ^{15}N -Lisina (g) | Agua (g) | Átomos % en exceso |
|-----------------------------|-----------------------------|----------|--------------------|
| | 0,011 | 100 | 95-99 |

| | Solución abundancia natural (g) | Solución enriquecida (g) | Átomos % en exceso (aproximado) |
|------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Estándar 3 | 20 | 0,003 | 0,0018 |
| Estándar 4 | 20 | 0,008 | 0,0048 |
| Estándar 5 | 20 | 0,018 | 0,0108 |
| Estándar 6 | 5 | 0,008 | 0,0192 |
| Estándar 7 | 5 | 0,018 | 0,0432 |

La concentración de lisina del estándar 1 es de 3 mM, por lo que la concentración aproximada de los estándares 3 al 7 también es 3 mM, ya que la cantidad de lisina aportada por el estándar 2 es mínima. La incorporación de éste estándar 2 si afecta al nivel de ^{15}N -lisina en la solución, como se puede ver en la tabla, ya que el N amino de la molécula es ^{15}N . Para derivar una cantidad de aminoácido similar a la de las muestras (100 nmoles) se toma una alícuota de aproximadamente 35 μl de cada estándar.

Tanto las soluciones patrón como las muestras derivadas se inyectan (1 μl) en modo “splitless” en un cromatógrafo de gases Trace unido por una interfase a una unidad de combustión en un espectrómetro de masas ThermoFinnigan Delta plus XL (ThermoFinnigan, Bremen, Alemania).



Figura 3.4. Espectrómetro de masas ThermoFinnigan Delta plus XL

La unidad de combustión oxida los aminoácidos separados individualmente a medida que éstos eluyen sucesivamente en el cromatógrafo de gases. La oxidación se realiza a 980°C utilizando filamentos de cobre,

platino y níquel. El óxido de nitrógeno producido durante este proceso se reduce a N₂ a 650°C mediante filamentos de cobre. El agua de combustión se elimina mediante una membrana de Nafion. Finalmente, el CO₂ se elimina con una trampa de N₂ líquido y el N₂ puro resultante se hace pasar al espectrómetro de masas, en el que se mide la relación masa/carga (m/z) 28:29 en comparación con un gas N₂ de referencia, libre de oxígeno.

3.2.2 Cálculo de la tasa de incorporación de aminoácidos microbianos a los tejidos del animal.

El enriquecimiento isotópico se expresa como átomos por ciento en exceso (APE, %), que se obtienen al deducir del valor de átomos por ciento total (AT, %), que nos proporciona el espectrómetro de masas, el valor correspondiente a la abundancia natural del isótopo de ¹⁵N-lisina.

$$APE (\%) = AT (\%) - Abundancia\ natural (\%)$$

La tasa de incorporación de los aminoácidos de origen bacteriano A (mg/d) se puede determinar a partir de la siguiente ecuación (Torrallardona y col, 2003):

$$A = \frac{T}{t} \times \frac{Et}{Em}$$

en la que T es la cantidad total de aminoácido en el organismo del animal; t es el tiempo durante el cual los animales han estado recibiendo el isótopo a través de la dieta; Et es el enriquecimiento isotópico de los aminoácidos corporales al final del estudio, y Em es el enriquecimiento isotópico medio de los aminoácidos de la proteína microbiana en el sitio de absorción.

4. Production and composition of the Iberian sow milk and utilisation of milk nutrients by the suckling Iberian piglet

Running head: Nutrient balance in Iberian suckling piglets

**Production and composition of the Iberian sow milk and utilisation of
milk nutrients by the suckling Iberian piglet^{1,2}**

M. A. Aguinaga¹, F. Gómez-Carballar², R. Nieto¹, J. F. Aguilera^{1,3}

¹*Instituto de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC),
Cno. del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada, Spain;* ²*Sánchez Romero
Carvajal Jabugo S.A., Seville, Spain.*

³Corresponding author: E-mail: jose.aguilera@eez.csic.es

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

Abstract

Sixteen pure-bred Iberian sows were used in an experiment performed in two consecutive trials. In each trial, four sows were selected for the evaluation of milk production, litter growth and nutrient balance measurements, and four additional sows for milk sampling. Litter size was equalized to six piglets on the day after farrowing by cross-fostering. Daily milk yield was determined weekly by the weigh-suckle-weigh technique over a 34-d lactation. Piglets were weighed individually at birth and weekly from d 5 of lactation. Milk samples were collected on d 5, 12, 19, 26 and 34 postpartum. The comparative slaughter procedure was used to determine piglet nutrient and energy retention. Within each litter, one piglet at birth and four piglets on the morning of d 35 of life were slaughtered. No significant differences between the two trials were observed for most of the parameters studied. Total milk yield was on average 5.175 ± 0.157 kg/d. The average chemical composition of sow milk was 179 ± 4 , 53.4 ± 1.0 , 58.5 ± 3.8 , 10.4 ± 0.3 and 56.9 ± 2.3 for dry matter, CP, fat, ash and lactose, respectively. Milk GE was 4.626 ± 0.145 MJ/kg. Milk intake per piglet tended to be greater in Trial 2 (832 vs. 893 g/d, respectively; $P = 0.066$). Piglet body gain contained 172.1 ± 1.3 , 151.5 ± 3.5 , 41.4 ± 0.6 and 635 ± 3 g/kg of protein, fat, ash and water, respectively, and 10.127 ± 0.126 MJ/kg of gross energy. Across the 34-d lactation, the Iberian piglets grew at an average rate of 168 ± 3 g/d. Gain to milk ratio and growth rate per MJ milk GE intake were on average 0.195 ± 0.002 g/g and 41.9 ± 0.5 g/MJ, respectively. The overall efficiency of protein accretion (g CP gain per g CP milk intake) was low and declined in Trial 2 (0.619 vs. 0.571; $P = 0.016$). Daily nutrient and energy deposition between birth and weaning were 27.4 ± 0.5 g protein, 24.2 ± 0.8 g fat and $1,615 \pm 40$ kJ

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

energy. Piglet energy requirements for maintenance were $404 \text{ kJ ME/kg BW}^{0.75}$. ME was used for growth with a net efficiency of 0.584. These results suggest that the poor efficiency of utilization of sow's milk nutrients, and not a shortage in milk nutrient supply, would explain the low rate of growth of the Iberian suckling piglet in comparison with conventional or lean genotypes.

Key words: milk production, milk composition, Iberian piglets, protein- and energy deposition, nutrient balance

Implications

This study demonstrates that growth rate in the suckling Iberian (IB) piglet is not limited by a shortage in milk nutrient supply and might be related to a comparatively lower efficiency of utilization of milk protein and energy than in piglets of conventional or lean breeds. In the young IB piglet protein deposition is a high costly process, presumably because of a high protein turnover rate, as found at later stages of growth. The sharp decrease in milk conversion ratios detected in the last week of the study suggests that a lactation period longer than four weeks is not recommended.

Introduction

Under similar commercial conditions growth rate of Iberian (IB) suckling piglets is lower than those observed for conventional or lean genotypes (Laguna Sanz, 1998). Growth rates as low as 165 and 200 g/d have been observed in the suckling IB piglet at 21 and 42 d of age, respectively (Daza, 2001). Intents to improve growth performance by creep feeding in combination with intermittent suckling (Gómez-Carballar *et al.*, 2009) have failed to result in heavier piglets at weaning or shortly after it. It is well known that both the amount of milk and its composition may limit the rate of growth of the suckling piglet (Williams, 1995). Some breed differences in nutrient composition of sow's milk have been reported (Fahmy, 1972; Zou *et al.*, 1992). So, it might be that the IB sow would be not able to support growth rates in her suckling piglets to approach the values observed in conventional or lean genotypes (presumably due to shortage in the provision of nutrients to the litter); however, the hypothesis that the IB piglet would attain its maximum capacity for body gain at a rather low growth level (due to limitations in metabolic utilization of nutrients or a limited protein accretion capacity) cannot be ignored. Few studies have been made on the efficiency of utilisation of nutrients and energy from sow's milk by the suckling piglet and no information at all exists concerning the IB genotype. Although the available information suggests high levels of efficiency (Pluske and Dong, 1998), we cannot discard differences among genotypes in biological utilization of milk protein and energy by the sow-reared piglet. Within a programme aiming at improving litter growth before weaning, the present experiment was made to test the hypothesis of a poor utilization of milk nutrients as the main factor responsible for the slower growth rate observed in the IB suckling piglet when compared to piglets of conventional genotypes. With this purpose, the supply of

nutrients and energy from sow's milk is related to body protein and energy retention in the suckling IB piglet.

Materials and methods

Animals

Procedures used in these experiments were approved by the Bioethical Committee of Spanish National Research Council (CSIC). Sixteen pure bred IB sows of the Silvela strain, in their third pregnancy, owned by Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A., were randomly selected at farrowing from Montecastilla farm (Granada de Rio Tinto, Huelva, Spain). The experiment was performed in two consecutive trials with 8 sows per trial. The first trial took place in July-August 2006 and the second one in October-November. Within each trial, four sows were selected for evaluation of milk production, litter growth and nutrient balance measurements, and the other four, for milk sampling.

The sows during their pregnancy had been housed in group in an open-air fenced 5000 m² space where they consumed restrictedly (1.8 kg/d for the first 70 days of pregnancy progressively increased to 2.5 kg/d up to housing at the farrowing room) a commercial gestation diet that contained per kg, as fed, 12.13 MJ ME, 140 g CP and 5.5 g Lys (PACSA-Sanders, Seville, Spain). Water was available *ad libitum*.

One week before farrowing the sows were individually housed in pens (2.40 x 1.60 m) in farrowing crates (1.90 x 0.60 m) placed in a ventilated room.

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

Fresh air entered from the outside through cooling filters placed at the windows and it was maintained wet by an air-temperature control. Nevertheless, the environmental temperature (ET) of the farrowing room was $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ in the first trial and $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, in the second one. The pens were equipped with a piglets' surface (1.20 x 0.40 m), thermo-regulated (at $33 - 35^{\circ}\text{C}$ during the first week of life, declining steadily to $25 - 27^{\circ}\text{C}$ at the end of the third week). The week prior to farrowing the sows were fed a commercial lactation feed (per kg, as-fed basis: 12.76 MJ ME, 144 g CP, 6.8 g Lys; PACSA-Sanders, Seville, Spain) at a level of 1% of BW. On day of parturition the sows were offered 1.5 kg of this diet. Thereafter, daily food allowance was increased by 0.6 kg to reach 4.5 kg/d the fifth day of lactation, which was maintained onwards. Sows' live weight just after farrowing was within the range of 130 - 140 kg. Sows and litters were permanently provided with water, but litters had no access to creep feed or sow feed. Lights of similar intensity to daylight were permanently on. In both trials deliveries took place within a 2-d period. Shortly after birth, the piglets were administered 200 mg Fe-dextran complex (Imposil Forte®; Alstoe Ltd, UK) via i.m. injection and litter size was equalized to six piglets on the day after farrowing by cross-fostering.

Measurements

Milk composition. Milk samples were collected from four sows on d 5, 12, 19, 26 and 34 postpartum within each trial. After suckling, piglets were separated from the dam. Two hours later, the sows were injected with 10 IU oxytocin and the milk was collected from all functional glands by hand-milking and stored in opaque plastic bottles at -20°C until analysed. Samples were defrosted at room

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

temperature and reconstituted by slight agitation (Bibby Scientific, SBS30, UK) in combination with the effect of ultrasonic bath (P. Selecta, mod. 514; Spain) to obtain a homogeneous mixture. An aliquot of milk was freeze-dried for analysis of total solids, ash and GE, whereas total fat and CP (total N x 6.38) were determined on aliquots of thawed milk. For the colostrum phase, individual samples (collected between approximately 10 and 35 h postpartum from different glands of the four additional sows in each trial) were mixed for each sow and analysed for total solids, CP, fat, ash and GE. The average composition was assumed to be representative of the nutrients content of the mammary secretion during the two first days of lactation.

Milk yield. Daily milk yield (MY) was determined weekly, by the weigh-suckle-weigh technique (Speer and Cox, 1984), during a 34-d lactation. An electronic balance (Sartorius AG, Germany; delta range 0.1 g (8 kg); 0.2 g (16 kg); 0.5 g (34 kg)) equipped with an integration system was used. Piglets were weighed individually at birth and from d 5 of lactation, every seven days. Within each day of measurement, a total of eight determinations at 75 min intervals were made. The total amount of milk was extrapolated to a 24-h period. To estimate the individual milk intake, each piglet was weighed individually. Piglets were kept in a cold surface for a few minutes before each measurement to encourage them to urinate and defecate. Milk intake of each piglet was calculated as the difference between the weight just after suckling (p, g) and the weight just before suckling (p', g) plus a correction term. This correction was made to account for piglets' weight losses due to evaporative losses and physical activity during suckling. To estimate the correction term, complementary observations

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

in piglets from the four nursing sows were carried out between 1 to 34 d of age as described by Klaver *et al.* (1981). For a close resemblance of the activity of piglets during suckling, only weight losses corresponding to high and medium activities were used to calculate the correction factor. In this way, it was calculated that during the period on suckling, piglets lost $0.1271 \text{ g/kg BW}^{0.75}$ min. Because of this correction milk intake of each piglet was calculated as:

$$\text{Milk intake} = (p - p') + 0.1271 * (p/1000)^{0.75*} \text{ min suckling}$$

The first two sucklings were discarded as in comparison with the subsequent suckling measurements they resulted in lower milk intakes, likely due to insufficient adaptation of the piglets to the management imposed; consequently, only the last six measurements were used to calculate daily milk production.

Calculation of nutrients and energy output. Total milk intake of each piglet and nutrient flow during the 34-d lactation period was calculated assuming that milk production changed linearly between the successive measurements. For this purpose, within each trial, mean nutrient concentrations at each day of sampling and individual milk intakes were used to estimate nutrient output of the corresponding week period. The estimation of the intake of nutrients from colostrum throughout the first two days after farrowing was based on intake observations made on d 2 on an additional group of litters of six piglets each. For the period between farrowing and day 5 of lactation the average

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

composition of colostrum was taken to calculate nutrient output during days 1 and 2 postpartum.

Comparative slaughter measurements. The comparative slaughter procedure was used to determine nutrient and energy retention between birth and weaning. Within each litter, one piglet at birth and four out of the six lactating piglets on the morning of d 35 of life, all with a BW close to the litter average, were anaesthetized by intra-peritoneal puncture of 40 mg/kg BW sodium pentobarbital (Sodium Pentotal®; Abbott Lab.) and subsequently bled. Blood and viscera, including the emptied gastrointestinal tract, and eviscerated carcass -split into carcass, and head, feet and tail as a whole-, were weighed and kept at -20°C until analysis. To obtain a homogeneous blend of each component, the carcass, viscera and head with tail and feet were cut into small pieces and chopped separately, and sub-samples were taken for freeze-drying and minced for subsequent analysis. Samples were analysed separately for DM, ash, CP (total N x 6.25) and GE. Body fat was calculated assuming an energy content of 23.8 and 39.8 kJ/g for protein and fat, respectively (Wenk *et al.*, 2001). Within each trial, body composition data from the initial slaughter group were used to estimate body composition of the other 16 piglets at birth. The average heat production (kJ/d) was calculated as the difference between daily ingested ME in milk over lactation and daily retained energy in the piglet body. The ME content of sow's milk was estimated to be 0.97 x milk GE (Jentsch *et al.*, 1995). Energy and nutrient intake were used to assess the efficiency of utilization of milk energy and nutrients for deposition in the piglet body.

Chemical Analysis

All analyses, in milk and in piglet tissues were performed in duplicate. The DM content and total ash determinations were carried out by standard procedures (AOAC, 1990). Whenever an analysis was made on a freeze-dried material a DM determination was performed on an aliquot sample, in a ventilated oven, by standard procedures to establish residual water content after freeze-drying and the corresponding analytical result expressed in a DM basis (Barea *et al*, 2007). Gross energy was measured in an isoperibolic bomb calorimeter (PARR 1356, Biometa, Illinois). Total N was determined by a Kjeldahl procedure (AOAC, 1990) using fresh thawed sample in the case of milk, and freeze-dried samples in the case of body components. Total fat in milk was determined by the Gerber method (AOAC, 1990). Lactose milk content was estimated by subtracting CP (total N x 6.38), fat and ash from total solids content.

Statistical analyses

Data on milk yield and milk nutrient composition were analysed by a repeated measures two-way ANOVA randomized design with period of lactation and trial replicate as main factors. As differences between the two trials were rather small and trial effect was very seldom significant, the experimental data were re-arranged in a single trial and reanalysed by a repeated measures ANOVA using the MIXED procedure of SAS. Data of milk nutrient output were also treated in this way. Data on piglets' body composition and nutrient utilization were analysed by one-way ANOVA with trial replicate as variation

factor by the GLM procedure of SAS. Again, trial effect was not significant and data were considered as belonging to one single trial. Results are expressed as least square means and SEM. Statistical significance was assessed using Tukey's t test. The level of significance was set to 5%.

Results

Milk production and composition

In both trials, the IB sows consumed their whole daily ration. Mean values of sow milk production and composition at the different days of measurement and sampling and of nutrient and energy milk output, calculated for the successive sub-periods throughout the 34-d lactation, appear in Table 1. The average composition of colostrum samples obtained for d 1-2 of lactation is also shown in Table 1. The average milk content (g/kg) of total solids, CP, fat, ash and lactose was 179 ± 4 , 53.4 ± 1.0 , 58.5 ± 3.8 , 10.4 ± 0.3 and 56.9 ± 2.3 g/kg for dry matter, CP, fat, ash and lactose, respectively. Mean GE in the IB sow milk was 4.626 ± 0.145 MJ/kg. The statistical analysis revealed that there was no effect of trial replicate on milk nutrient contents (data not shown), except for higher ash content (10.8 vs. 9.52 g/kg; $P < 0.001$) and a tendency for higher CP content (54 vs. 52 g/kg; $P = 0.074$) in the first replicate. Data given in table 1 show that as lactation advances a sharp increase in ash content took place ($P < 0.001$), while a sudden rise in CP concentration occurred at the end of the suckling period ($P < 0.001$). An average protein to energy ratio of 11.3 (10.0 to 13.1) g/MJ GE across lactation can be calculated.

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

Total MY was on average 5.175 ± 0.157 kg/d in the 34-d lactation, and tended to differ between the two trials ($P = 0.090$). An examination of daily MY data points out that the production of milk (and consequently piglet milk intake, g/d) attained a peak at d 12 and levelled off thereafter ($P < 0.01$). The effect of the phase of lactation on total output of milk nutrients was highly significant ($P < 0.001$).

Over the 34-d lactation, the IB piglets grew at an average rate of 168 ± 3 g/d, irrespective of trial replicate. A steady decline of piglets' body gain -from 202 to 130 g/d, on average- was observed as lactation advanced ($P < 0.001$). As a result, there is a continuous decrease in gain to milk ratio (G:M) ($P < 0.001$). In the last week of lactation milk conversion ratios were rather low. Gain to milk ratio and gain / MJ milk GE intake did not differ statistically between trials being on average 0.195 ± 0.002 and 41.9 ± 0.5 . This indicates an average energy cost of 23.9 (1/41.9) kJ milk GE/g piglet gain. Assuming a coefficient of metabolizability of milk GE of 0.97, this would be equivalent to 23.2 kJ milk ME/g gain.

Body composition of piglets

The mean whole-body chemical composition (g/kg) of piglets at birth and at weaning after 34-d lactation appears in Table 2. The average empty-body weight at birth and at weaning was not influenced by trial replicate (1.361 and 6.777 kg, respectively; $P > 0.05$). No significant differences between trials were found in nutrient composition except for the ash content in the weaned piglets, which decreased in Trial 2 (41.8 vs. 39.5 g/kg; $P < 0.05$). Between birth and

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

weaning, the chemical composition of 1 kg gain remained unaltered in both trials, being on average 172.1 ± 1.3 , 151.5 ± 3.5 and 635 ± 3 g, and 10.127 ± 0.126 MJ, respectively for protein, fat, water and gross energy content. However, ash content was three percentage units lower in Trial 2 (42.9 vs. 39.9 g/kg; $P < 0.05$).

Nutrient and energy balance of piglets

Table 3 shows the intake and retention of nutrients and energy from milk by the suckling IB piglets. The average intake of milk per piglet in the 34-d lactation showed a tendency to be higher in Trial 2 (832 vs. 893 g/d; $P = 0.066$), implying small differences in piglet daily protein (44.7 vs. 48.7 g/d; $P < 0.05$) and energy supply (3,866 vs. 4,150 kJ/d for GE; $P = 0.066$) between trial replicates (data not shown). No significant differences in body deposition of nutrients and energy from milk were observed between the two trial replicates, neither in their efficiency of utilization by the suckling piglet. Exceptionally, a decline of the overall efficiency of utilization of milk protein was observed in Trial 2 (0.619 vs. 0.571; $P < 0.05$). On average, over the 34-d lactation, 27.4 g protein (4.38 g N) were deposited daily in the body of the IB piglets. An increased heat production was noticed in piglets in this trial (2,164 vs. 2,454 kJ/d; $P < 0.05$) because of their greater ME intake. The range of ME intakes allowed establishing linear and multiple regression equations with individual data ($P < 0.001$). ME intake (MEI) was related to total energy retained (ER) and MEI to ER as protein (ER_p) and ER as fat (ER_f), to predict maintenance requirements (ME_m) and calculate net efficiencies of utilization of ME for growth (k_g) and partial efficiencies of utilization of ME for protein (k_p) and fat (k_f) deposition:

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

$$\text{MEI (kJ/d)} = 1158 (\text{se } 416) + 1.71 (\text{se } 0.26) \text{ER (kJ/d)}; n = 32; R^2 = 0.600 \quad (1)$$

$$\text{MEI (kJ/d)} = 813 (\text{se } 547) + 2.67 (\text{se } 1.02) \text{ER}_p (\text{kJ/d}) + 1.44 (\text{se } 0.40) \text{ER}_f (\text{kJ/d}); n = 32; R^2 = 0.613 \quad (2)$$

From eq. 1 ME_m was calculated as 1158 kJ/d, equivalent to 404 kJ ME/kg $\text{BW}^{0.75}$ (mean piglet BW = 2.864 kg). k_g was estimated as $1/1.71 = 0.584$. From eq. 2 k_p and k_f are calculated as 0.373 ($1/2.67$) and 0.696 ($1/1.44$), respectively.

Discussion

Methodological aspects related to the estimation of milk nutrient output

In the present experiment milk samples were collected from the eight additional sows to those used for milk yield measurements. The procedure followed allowed the collection of a great volume of milk (>100 ml) from all functional glands without disrupting the suckling pattern of piglets involved in the nutrient balance measurements. It was assumed that within each trial the average composition calculated from the analysed individual samples would be representative of the composition of the milk secreted by the sows used for the determination of milk production, as both groups of sows were kept under identical experimental conditions. Noblet and Etienne (1986, 1987 and 1989) collected milk samples the days following measurements of milk production. Although corrections can be applied, this method may disrupt the normal access of piglets to the teats and reduces the volume of milk consumed and, consequently, piglets' body gain.

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

The weigh-suckle-weigh method was used to estimate milk production. This method is laborious but preferable when applied to large periods of lactation in comparison with the isotope dilution methodology, first described by MacFarlane et al. (1969), due to the difficulties from preventing the consumption of water in piglets of over 3 to 4 weeks of age (Yang et al., 1980). On the other hand, according to the observations by Speer and Cox (1984), the number of valid measurements used in the present study (6) would result in accurate estimations of sow milk yield. To avoid underestimation of the milk consumed by the piglets, corrections were made for metabolic rate (including physical activity) and evaporative losses (Klaver et al., 1981).

Nutrient flow in the period from farrowing to d5 of lactation was estimated assuming an average colostrum output. This estimate was based on (1) a number of colostrum intake determinations carried out on d 2 of piglets' life, in a separate trial; (2) on the analysed composition of individual samples of colostrum collected from different sows from 10 to 35 h postpartum, and (3) on the assumption that milk yield changed linearly between d0 and d5 postpartum. In this way, the intake of colostrum on d1 was estimated as 432.4 ± 11.8 g per piglet. This figure amounts to 18.01 ± 0.49 g/h, a flow similar to 18.0 ± 1.1 g/h reported by Spinka et al. (1997) per teat on d1 in Swedish Landrace x Yorkshire sows. Our estimation is equivalent to 308 g/kg piglet BW, a value 28 and 19%, higher, respectively, than those of 240 and 260 g/kg average BW observed by Le Dividich and Noblet (1981) and Milon et al. (1983). Although this estimation may imply some bias, the potential error was considered small as it concerns less than one fifth of total lactation.

Milk yield and composition

Current tendencies for the intensification of the productive cycle of the pure IB pig are widely adopted. They are compatible with a final fattening stage on acorn and pasture, within the so-called traditional extensive systems of heavy pig production, spread in some Mediterranean areas. Intensification of the management is particularly practised during the first stages of growth, including the suckling period. Weaning, performed around 28 d of age, has replaced traditional practices. The average number of IB piglets born per litter has been registered as 7.4 (Laguna Sanz, 1998). This author reports on statistical data obtained in IB pig farms over the last 50 years of the 20th century in which routine controls of piglets' weight were carried out at 21 days of age. Average individual BW was in the range of 4.29 to 4.55 kg. Growth rates as low as 165 and 200 g/d have been observed in the suckling piglet at 21 and 42 days of age, respectively (Daza, 2001). This low performance suggests either a shortage in the supply of milk nutrients to the IB suckling piglets or a poor conversion of milk nutrients to body constituents, resulting in worse growth rates than those reported for lean genotypes (see Elsley, 1971). Milk yield and composition are key factors in determining piglet growth. Milk yield has been related to litter and piglet size. Parity number and stage of lactation are additional influencing factors (ARC, 1981).

No available data exist in the literature concerning yield and composition of IB sows' milk. The application of prediction equations from the literature results in biased estimations of milk yield and energy or nutrients outputs. For

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

instance, Etienne *et al.* (1998) related milk production and GE and N outputs over 20 to 25-d lactation with piglet average daily body gain and energy or nitrogen in piglet weight gain. From the present experiment an average daily gain of 185 g per piglet can be calculated for an equal length of lactation, what results in daily estimations of 698 g of milk, 5.49 g milk N and 3,466 kJ of milk energy per piglet, respectively. Actual corresponding figures in the present experiment are 841 g, 6.74 g and 3,959 kJ. The National Research Council (1998) uses a re-arrangement of the equation reported by Noblet and Etienne (1989) to estimate milk energy daily transferred to the litter. This equation underestimates the amount of milk produced daily by the IB sows in 12%. On the contrary, the average MY of 6.25 kg/d in an 8-week lactation period (6.57 kg/d in an 5-week lactation) for conventional sows, adopted by the Agricultural Research Council (1981), based on data compiled by Elsley (1971) from estimates of milk production reported in the literature, is well above present values. However, from this estimation, an intake of 821 g milk per piglet is obtained for an average litter of 8 piglets, a figure comparable to our observations.

Renaudeau *et al.* (2003) found that an increase of ET from 20 to 28°C with a constant feed allowance did not alter milk production or composition in multiparous Large White x Landrace sows. Although we cannot identify any effect of ET due to the confounding effect of ET and trial replicate, we also did not observe differences between trials on MY, so data were averaged. A number of factors have been reported to affect milk production and composition (Darragh and Moughan, 1998), but there are data to support that the provision

of milk nutrients to the piglet does not depend strictly on the supply of dietary nutrients to the dam due to mobilization of sow reserves (Klaver *et al.*, 1981; Clowes *et al.*, 1998; Pluske *et al.*, 1998), an ability which declines as fat reserves are depleted (Noblet and Etienne, 1986). In our study, the feeding regimen throughout lactation resulted in average daily weight losses in the range of 400 to 550 g/d and did not affect sows' MY. Significant differences in concentration of milk nutrients attributed to breed have been reported by Fahmy (1972), Zou *et al.* (1992) and Alston-Mills *et al.* (2000), among others. Our results on IB sow milk composition are very close and follow a similar pattern as lactation advanced as those observed by Klobasa *et al.* (1987) in milk samples from German Landrace sows. Nevertheless, compared with Braude *et al.* (1947) in Large White sows, the present results show consistent lower concentrations for total solids, fat and protein and greater lactose content. According to Liotta *et al.* (2007), the milk from Nero Siciliano sows, a Mediterranean porcine genotype as the IB breed, have greater concentration of fat and energy content than IB milk.

Piglets performance

Very few experiments have been conducted on suckling piglets with the dam, involving measurements of MY and milk composition at several stages of lactation and, therefore, in a close resemblance of what happens under practical conditions (Noblet and Etienne, 1986 and 1987; Jentsch *et al.*, 1995). Consequently, for the present discussion a preference is given to those experiments carried out under similar management conditions.

PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET

In our trials, piglet daily gain measured at successive sub-periods decreased from 202 to 130 g and milk conversion ratio (g milk / g gain) increased from 3.02 (1/0.331) to 7.04 (1/0.142) as lactation progressed (Table 1). Such performance pattern results from a rather constant supply of nutrients from milk and a steady and noticeable increase in maintenance requirements as the piglets get heavier. IB piglets require more milk per g body gain than those of the study of Pluske *et al.* (1998) (in the range of 3.8 to 4.2, depending on the feeding level of the sows and the stage of lactation), being comparable the protein and energy milk content in both studies. In the study of Noblet and Etienne (1986) conversion ratios of milk and milk energy into piglet body-gain were on average 3.82 and 18.3 kJ/g, which compare very favourably with those observed in the present experiment (5.15 (1/0.195) and 23.9 (1/41.9)). When the comparison is made for a 21-d lactation, the present experiment results also in comparatively poorer efficiencies of milk nutrient utilization (4.48 (1/0.223) and 21.0 (1/47.6)).

Body composition of piglets

Compared with piglets from conventional breeds (Elliot and Lodge, 1977; Noblet and Etienne, 1986; Jentsch *et al.*, 1995), the composition of the IB piglets at birth shows increased protein, fat and ash contents, and consequently, greater concentration of total solids and energy density. Noticeably, fat content doubles the reported values for lean breeds. This would be a key factor for the survival of the newborn IB piglet particularly when delivery takes place in open-air conditions. Comparisons of body composition at weaning and of body gain can be biased due to differences in length of

lactation. Noblet and Etienne (1987) demonstrated that the chemical composition of the weaned piglet was largely affected by the rate of growth, being protein and ash content negatively correlated to ADG, while dry matter, fat and energy content were positively correlated. In their experiment 141 mg protein, 197 mg fat, 28 mg ash, 410 mg dry matter and 12.384 kJ were deposited per g increase in piglet body gain. The values obtained for the chemical composition of the IB piglets at weaning support the observations of these authors and predict a comparatively lower growth rate. It should be mentioned that the average energy content of the IB piglet body gain (10.127 MJ/kg) is close to the mean value of 10.1 MJ reported by Noblet and Etienne (1987) across breeds.

Nutrient and energy balance of piglets

With an average empty-body gain of 160 g/d, the daily nutrient and energy deposition between birth and weaning after 34-d lactation were 27.4 g protein (4.38 g N), 22.7 g fat and 1615 kJ energy (Table 3). These deposition rates are slightly lower than those reported by Noblet and Etienne (1987) in Large White piglets weaned at only 22 days of age (4.78 g N; 28.7 g fat), in line with the slower average growth rate observed in the IB piglet after a similar period of lactation (185 vs. 195 g/d, respectively). On the opposite, our estimates are greater than values obtained by Jentsch *et al.* (1995) in piglets from German Landrace sows weaned at 26 days of age. The overall efficiency of utilization of protein from the IB sow milk is rather poor (0.619 and 0.571 in Trials 1 and 2, respectively) in comparison with ratios observed in suckling

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

piglets from lean genotypes. Noblet and Etienne (1987) obtained a value as high as 0.88. Jentsch *et al.* (1995) reported a ratio of 0.74.

Gross energy from milk was retained in the body of the IB piglet with an overall efficiency of 0.400, a value again lower than those reported by Noblet and Etienne (1987) and Jentsch *et al.* (1995) (0.547 and 0.435, respectively). The regression of MEI on energy deposition yielded a cost of 1.71 kJ per kJ ER in the body of piglets, i.e. a net availability of ME from milk of IB sow of 0.584, and a calculated ME_m of 404 kJ/kg $BW^{0.75}$. This value is lower than those of 468 and 451 kJ/kg $BW^{0.75}$ reported by Jentsch *et al.* (1995) for suckling and early weaned piglets fed cow's milk, respectively. It is also lower than the value of 445 kJ/kg $BW^{0.75}$ published by Campbell and Dunkin (1983) for early weaned piglets given a protein-adequate diet based on skim-milk powder. In IB growing pigs given an adequate supply of ideal protein we obtained an estimate of 422 kJ/kg $BW^{0.75}$ per d for ME_m and an identical value for k_g (0.582; Nieto *et al.*, 2002). In the experiments of Jentsch *et al.* (1995) k_g values were in the range of 0.70 to 0.72. Our estimates of k_p (0.373) and k_f (0.696), calculated by means of the eq. 2, suggest that in the IB suckling piglet ME costs for protein accretion and fat deposition attain 64 and 57 kJ/g respectively. While our k_f value approaches those reported in the literature for early weaned piglets (0.72-0.78; Close and Stanier, 1980; Campbell and Dunkin, 1983; Gädeken *et al.*, 1985), our estimate for k_p is far below the corresponding values found in these studies (0.74-0.83). The high energy cost of the protein deposited in the IB piglet explains, at least in part, the poor conversion ratio of milk energy into body energy retention. In IB pigs at different stages of growth we have also obtained

very low values for k_p (0.303 and 0.218; Nieto *et al.*, 2002; Barea *et al.*, 2007), corroborating that in this pig breed considerably more energy is required per unit of protein deposited, presumably as a result of a comparatively greater protein turnover. Indeed, Rivera-Ferre *et al.* (2005) found that growing IB pigs fed balanced protein to energy diets had higher muscle fractional protein synthesis rates than Landrace pigs, although muscle mass was smaller.

In conclusion, the present results suggest that the slow rate of growth of the IB suckling piglet in comparison with conventional or lean breeds can be explained not by a shortage in milk nutrient intake, but as a result of its limited capacity for protein accretion, and the poor efficiency of use of milk protein and energy for body deposition. A period of lactation longer than 28 days is not recommended.

Acknowledgements

This study was supported by Junta de Andalucía grant No. AGR-395. MA Aguinaga was recipient of a grant from Junta de Andalucía. We thank Ms Ana Navarro and Mr Francisco Funes for skillful technical assistance, and Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A. (Seville) for their helpful collaboration.

References

Alston-Mills B, Iverson SJ and Thompson MP 2000. A comparison of the composition of milks from Meishan and crossbred pigs. *Livestock Production Science* 63, 85-91.

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

Association of Official Analytical Chemists 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition. AOAC, Arlington, VA, USA.

Agricultural Research Council 1981. The Nutrient Requirements of Pigs. Commonwealth Agricultural Bureaux, Slough, UK.

Barea R, Nieto R and Aguilera JF 2007. Effects of the dietary protein content and the feeding level on protein and energy metabolism in IB pigs growing from 50 to 100 kg body weight. *Animal* 1, 357-365.

Braude R, Coates ME, Henry KM, Kon SK, Rowland SJ, Thompson SY and Wolker DM 1947. A study of the composition of sow's milk. *British Journal of Nutrition* 1, 64-77.

Campbell RG and Dunkin AC 1983. The effects of energy intake and dietary protein on nitrogen retention, growth performance, body composition and some aspects of energy metabolism of baby pigs. *British Journal of Nutrition* 49, 221-230.

Close WH and Stanier MW 1980. The energy requirement for growth in the early-weaned pig. In *Energy metabolism*. EAAP publication no. 26, pp. 399-402. Cambridge, UK.

Clowes EJ, Williams IH, Baracos VE, Pluske JR, Cegielski AC, Zak LJ and Aherne FX 1998. Feeding lactating primiparous sows to establish three divergent metabolic states: II. Effect on nitrogen partitioning and skeletal muscle composition. *Journal of Animal Science* 76, 1154-1164.

Daza A 2001. Sistemas de explotación. In *Porcino Ibérico: aspectos claves* (eds C Buxadé-Carbó and A Daza-Andrada), pp. 151-175. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

- Elliot JI and Lodge GA 1977. Body composition and glycogen reserves in the neonatal pig during the first 96 hours postpartum. *Canadian Journal of Animal Science* 57, 141-150.
- Elsley FWH 1971. Nutrition and lactation in the sow. In *Lactation* (ed, IR Falconer), pp. 393-411. Butterworths, London, UK.
- Etienne M, Dourmad JY and Noblet J 1998. The influence of some sow and piglet characteristics and of environmental conditions on milk production. In *The lactating sow* (ed, MWA Verstegen, PJ Moughan and JW Scharama), pp. 285-299. Wageningen Pers, The Netherlands.
- Fahmy MH 1972. Comparative study of colostrum and milk composition of seven breeds of swine. *Canadian Journal of Animal Science* 52, 621-627.
- Folch J, Lees M and Sloane-Stanley GH 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal Biological Chemistry* 226, 497-509.
- Gädeken D, Oslage HJ and Böhme H 1985. Untersuchungen zum energetischen Erhaltungsbedarf und zur Verwertung der umsetzbaren Energie für den Protein- und Fettansatz bei Ferkeln. *Archiv für Tierernährung* 35, 481-494.
- Gómez-Carballar F, Aguinaga MA, Nieto R and Aguilera JF 2009. Effects of intermittent suckling on the performance and digestive efficiency of Iberian piglets weaned at 35 days of age. *Livestock Science* 124, 41-47.
- Jentsch W, Beyer M, Schiemann R and Hoffmann L 1995. Untersuchungen zum energie- und stickstoffumsatz von graviden und laktierenden sauen sowie von saugferkeln. 7.Mitteilung – Energie- und Stickstoffumsatz von Saugferkeln. *Archiv für Tierernährung* 47, 319-344.

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

- Klaver J, van Kempen GJM, de Lange PGB, Verstegen MWA and Boer H 1981. Milk composition and daily yield of different milk components as affected by sow condition and lactation/feeding regimen. *Journal of Animal Science* 52, 1091-1097.
- Klobasa F, Werhahn E and Butler JE 1987. Composition of sow milk during lactation. *Journal of Animal Science* 64, 1458-1466.
- Laguna Sanz, E. 1998. *El cerdo Ibérico en el próximo milenio*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Le Dividich J and Noblet J 1981. Colostrum intake and thermoregulation in the neonatal pig in relation to environmental temperature. *Biol. Neonate* 40, 167-174.
- Liotta L, Madonia G, Chiofalo B, Margiotta S, Riolo EB and Chiofalo V 2007. Milk composition of "Nero Siciliano" sow. Preliminary results. *Italian Journal of Animal Science* 6 (Suppl. 1), 692 (Abstr.).
- MacFarlane, W V, Howard, B and Siebert, BD 1969. Tritiated water in the measurement of milk intake and tissue growth of ruminants in the field. *Nature* 221, 578-579.
- McCracken KJ, Eddie SM and Stevenson WG 1980. Energy and protein nutrition of early-weaned pigs. 1. Effect of energy intake and energy:protein on growth, efficiency and nitrogen utilization of pigs between 8-32 d. *British Journal of Nutrition* 43, 289-319.
- Milon A, Aumaitre A, Le Dividich J, Franz J and Metzger J 1983. Influence of birth prematurity on colostrum composition and subsequent immunity of piglets. *Ann. Rech. Vet.* 14, 533-540.

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

- Nieto R, Miranda A, García MA and Aguilera JF 2002. The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy utilization in growing IB pigs from 15 to 50 kg body weight. *British Journal of Nutrition* 88, 39-49.
- Noblet J and Etienne M 1986. Effect of energy level in lactating sows on yield and composition of milk and nutrient balance of piglets. *Journal of Animal Science* 63, 1888-1896.
- Noblet J and Etienne M 1987. Body composition, metabolic rate and utilization of milk nutrients in suckling piglets. *Reproduction, Nutrition and Development* 27, 829-839.
- Noblet J and Etienne M 1989. Estimation of sow milk nutrient output. *Journal of Animal Science* 67, 3352-3359.
- Noblet J, Etienne M and Dourmand JY 1998. Energetic efficiency of milk production. In *The lactating sow* (eds MWA. Verstegen, PJ Moughan and JW Scharama), pp.113-130. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- National Research Council 1998. Nutrient requirement of swine. 10th revised edition. National Academic Press, Washington, D.C. USA.
- Pluske JR and Dong GZ 1998. Factors influencing the utilisation of colostrum and milk. In *The lactating sow*. (eds MWA. Verstegen, PJ Moughan and JW Scharama), pp.45-70. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- Pluske JR, Williams IH, Zak LJ, Clowes EJ, Cegielski AC and Aherne FX 1998. Feeding lactating primiparous sows to establish three divergent metabolic states: III. Milk production and pig growth. *Journal of Animal Science* 76, 1165-1171.

**PRODUCTION AND COMPOSITION OF THE IBERIAN SOW MILK AND
UTILISATION OF MILK NUTRIENTS BY THE SUCKLING IBERIAN PIGLET**

- Renaudeau D, Noblet J and Dourmad JY 2003. Effect of ambient temperature on mammary gland metabolism in lactating sows. *Journal of Animal Science* 81, 217-231.
- Rivera-Ferre MG, Aguilera JF and Nieto R 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in IB than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *Journal of Nutrition* 135, 469-478.
- Speer VC and Cox DF 1984. Estimating milk yield of sows. *Journal of Animal Science* 59, 1281-1285.
- Spinka M, Illman G, Algers B and Stetková Z 1997. The role of nursing frequency in milk production in domestic pigs. *Journal of Animal Science* 75, 1223-1228.
- Wenk C, Colombani PC, van Milgen J and Lemme A 2001. Glossary: Terminology in animal and human energy metabolism. In *Energy Metabolism in Animals*. EAAP publication no. 103, pp. 409-421. Snekkersten, Denmark.
- Williams IH 1995. Sow's milk as a major nutrient source before weaning. In *Manipulating Pig Production* (eds VDP Hennessy and PD Cranwell), pp. 107-113. Australasian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia.
- Yang, TS, Howard, B and MacFarlane, WV 1980. A note on milk intake of piglets measured by tritium dilution. *Animal Production* 31, 201-203.
- Zou S, McLaren DG and Hurley WL 1992. Pig colostrum and milk composition: comparisons between Chinese Meishan and US breeds. *Livestock Production Science* 30, 115-127.

Table 1 The effect of days on lactation on composition and yield of Iberian sows' milk throughout a 34-d lactation¹

| Days on lactation | Total solids | CP ² | Fat | Ash | Lactose | GE, MJ/kg | Milk Yield, kg |
|------------------------------------|--------------|--------------------|------------|-------------------|----------------------|---------------|---------------------|
| Colostrum composition, g/kg | | | | | | | |
| d1- d2 | 226 ± 0.3 | 158 ± 0.4 | 37.6 ± 1.4 | 6.35 ± 0.07 | 23.4 ± 1.4 | 5.773 ± 0.016 | |
| Milk composition, g/kg | | | | | | | |
| d5 | 182 | 52.8 ^a | 63.2 | 8.90 ^a | 57.2 ^{abcd} | 4.795 | 4.479 ^a |
| d12 | 184 | 49.2 ^b | 61.4 | 8.97 ^a | 64.2 ^{ac} | 4.897 | 5.834 ^b |
| d19 | 177 | 51.5 ^{ab} | 61.6 | 9.90 ^b | 54.4 ^{bcd} | 4.537 | 5.452 ^c |
| d26 | 174 | 52.5 ^{ab} | 54.0 | 11.1 ^c | 56.6 ^c | 4.419 | 5.176 ^c |
| d34 | 180 | 59.6 ^c | 55.5 | 12.0 ^c | 52.9 ^d | 4.585 | 5.427 ^{bc} |
| SEM | 4 | 1.0 | 4.1 | 0.28 | 2.5 | 0.157 | 0.165 |
| P-value³ | 0.686 | *** | 0.331 | *** | * | 0.445 | ** |
| d0 – d34 | 179 ± 4 | 53.4 ± 1.0 | 58.5 ± 3.8 | 10.4 ± 0.3 | 56.9 ± 2.3 | 4.626 ± 0.145 | 5.175 ± 0.1566 |

Total nutrient output, g/piglet

| Days on lactation | Total solids | CP² | Fat | Ash | Lactose | GE, MJ | Total gain, g | Daily gain, g | Gain:Milk | Gain: Milk GE, g/MJ |
|----------------------------|---------------------|-----------------------|------------------|-------------------|-------------------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------------|----------------------------|
| d0 - d5 | 615 ^a | 277 ^a | 170 ^a | 25.1 ^a | 142 ^a | 16.01 ^a | 1012 ^a | 202 ^a | 0.331 ^a | 64.6 ^a |
| d6 - d12 | 1145 ^{bc} | 307 ^b | 383 ^b | 55.9 ^b | 400 ^b | 30.50 ^{bd} | 1319 ^b | 188 ^{ab} | 0.213 ^b | 43.4 ^b |
| d13 - d19 | 1166 ^b | 339 ^c | 405 ^b | 65.1 ^c | 358 ^{cd} | 29.85 ^b | 1227 ^{bc} | 175 ^{bc} | 0.187 ^c | 41.3 ^b |
| d20 - d26 | 1077 ^c | 324 ^{bc} | 334 ^c | 68.5 ^d | 350 ^c | 27.33 ^c | 1120 ^{cd} | 160 ^c | 0.181 ^c | 40.9 ^c |
| d27 - d34 | 1299 ^d | 430 ^d | 400 ^b | 86.8 ^e | 382 ^{bd} | 33.08 ^d | 1037 ^{ad} | 130 ^d | 0.142 ^d | 31.1 ^d |
| SEM | 20 | 6 | 7 | 1.1 | 6 | 0.53 | 23 | 3.3 | 0.003 | 0.6 |
| P-value³ | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** | *** |
| d0 - d34 | 5301 ±103 | 1677 ±32 | 1692 ±33 | 301 ±6 | 1631 ±32 | 136.8 ±2.6 | 5715 ±113 | 168 ± 3 | 0.195 ±0.002 | 41.9 ±0.5 |

¹Determined in 8 sows and 48 piglets (4 sows and 24 (6 x 4) piglets in each of 2 trials).

²Total N x 6.38

³ *** $P < 0.001$

Table 2 *Body nutrient composition and composition of body gain of suckling Iberian piglets after 34-d lactation¹*

| Item | Birth | Weaning | Gain |
|--|---------------|----------------|----------------|
| Live weight, kg² | 1.409 ± 0.019 | 7.124 ± 0.120 | |
| Body gain, kg² | | | 5.715 ± 0.113 |
| Empty live weight, kg² | 1.361 ± 0.021 | 6.777 ± 0.111 | |
| Empty body gain, kg² | | | 5.417 ± 0.107 |
| Nutrient composition, g/kg | | | |
| Protein (N x 6.25) | 128.9 ± 2.8 | 163.0 ± 1.0 | 172.1 ± 1.3 |
| Fat | 26.4 ± 0.8 | 125.3 ± 2.8 | 151.5 ± 3.5 |
| Ash | 40.0 ± 1.3 | 40.6 ± 0.5 | 41.4 ± 0.6 |
| Water | 805 ± 4 | 671 ± 2 | 635 ± 3 |
| Energy, MJ/kg | 4.122 ± 0.064 | 8.868 ± 0.101 | 10.127 ± 0.126 |

¹Calculated from 32 piglets (4 piglets per litter (4) in each of 2 trials). Nutrient composition at birth was measured in one piglet per litter.

²Determined in 48 piglets (6 piglets per litter (4) in each of 2 trials).

Table 3 *Utilization of milk nutrients and energy by the suckling Iberian piglet throughout a 34-d lactation*

| Daily intake¹, g | Mean | SEM |
|--|-------------|------------|
| Milk | 863 | 17 |
| CP (N x 6.38) | 46.7 | 0.9 |
| GE, kJ/d | 4.008 | 0.077 |
| Daily retention² | | |
| Protein, g | 27.4 | 0.5 |
| Prot retained/milk protein intake | 0.594 | 0.010 |
| Fat, g | 24.2 | 0.8 |
| Ash, g | 6.58 | 0.15 |
| GE, kJ | 1,615 | 40 |
| ER/ GE intake | 0.400 | 0.007 |
| ER as protein³, kJ | 653 | 12 |
| ER as protein/ total ER | 0.408 | 0.007 |
| ER as fat³, kJ | 962 | 32 |
| ER as fat / total ER | 0.592 | 0.007 |
| Heat production, kJ/d | 2,309 | 63 |

¹Determined in 48 piglets (6 piglets per litter (4) in each of 2 trials).

²Determined by the comparative slaughter approach in 32 piglets (4 piglets per litter (4) in each of 2 trials).

³Assuming an energy content of 23.8 and 39.8 kJ/g for protein and fat, respectively (Wenk *et al.*, 2001)

*5. Utilisation of milk Amino Acids in
Suckling Iberian Piglet*

Utilisation of milk amino acids by the suckling Iberian piglet^{1, 2}

M. A. Aguinaga¹, F. Gómez-Carballar², R. Nieto¹ and J. F. Aguilera^{1, 3}

¹Instituto de Nutrición Animal, Estación Experimental del Zaidín (CSIC).
Cno. del Jueves s/n, 18100 Armilla, Granada, Spain; and ²Sánchez Romero
Carvajal Jabugo S.A., Seville, Spain.

Running head: Amino acid balance in Iberian suckling piglets

Author for correspondence: Tel: +34 958 572757

Summary

Sixteen pure-bred Iberian (IB) sows were used in two trials to determine the efficiency of utilization of milk protein and AA for growth in suckling piglets. It was hypothesized that there may be one or more strongly limiting EAA responsible for the slow rate of growth of the IB piglet. This AA will show the highest fractional retention. Daily milk yield and composition was determined weekly over a 34-d lactation period. Within each litter, one piglet at birth and four piglets on d 35 of life were slaughtered. The protein content of the IB sow milk was similar to that reported for conventional breeds. However, branched-chain AA, Thr, Pro, Asp and Ala were in concentrations somewhat below the range of literature values and Arg and Met, substantially above it. Milk intake per piglet tended to be greater in Trial 2 (832 vs. 893 g/d, respectively; $P = 0.066$). However, the IB piglets grew at 168 ± 3.3 g/d, irrespective of the trial. The whole-body protein of piglets at weaning and the protein deposited in their body during the lactating period showed very close AA pattern. Among EAA, His and Arg show the highest fractional retentions (g AA retained/ g AA ingested) in whole-body tissues (1.019 ± 0.025 and 0.913 ± 0.017 , respectively) and also the highest body to milk ratios (1.50 and 1.41, respectively). Gly and Ala presented, among NEAA, the highest efficiencies of utilization for tissue deposition (1.803 ± 0.057 and 1.375 ± 0.026 , respectively) and body to milk ratios (2.75 and 2.12, respectively). These results suggest that the low efficiency of utilization of milk protein and the low rate of gain of the IB suckling piglet can be explained by a marked shortage in His supply, in addition to the suboptimal milk provision of Arg, Gly and Ala.

Key words: Iberian suckling piglets, sow milk, amino acid deposition, amino acid efficiency

Introduction

In line with available data in the literature (Laguna Sanz, 1998), a previous paper of ours (Aguinaga et al., 2010) has corroborated that under similar commercial conditions the Iberian (IB) suckling piglet attains slower growth rates than those observed for conventional or lean pig genotypes. Noblet and Etienne (1987) in Large White piglets weaned at only 22 days of age reported an average daily gain of 195 g. Noticeably, rates of gain as low as 165 and 200 g/d have been observed in the suckling IB piglet at 21 and 42 d of age, respectively (Daza, 2001). We have failed to obtain heavier piglets at weaning (or shortly after) by creep feeding in combination with intermittent suckling (Gómez-Carballar et al., 2009). The study by Aguinaga et al. (2010) demonstrates that the slow rate of growth of the suckling IB piglet is not the result of a shortage in milk nutrient supply and can be related to an inefficient utilization of milk protein and energy. This is in clear contrast to the available information on conventional or lean pig genotypes which suggests high levels of conversion of milk protein and energy by the sow-reared piglet (Pluske and Dong, 1998). In our experiment the IB piglets grew at an average rate of 168 g/d. Milk conversion ratio was on average 5.15. The mean energy cost of body gain was estimated as 23.9 kJ milk GE/g gain, and therefore, 30% higher than 18.4 MJ milk energy calculated as an average from several surveys (Noblet et al., 1998). The overall efficiency of protein accretion was rather poor (0.619 - 0.571). Noblet and Etienne (1987) obtained a value as high as 0.88 and Jentsch et al. (1995) reported a ratio of 0.74. Energy from milk was used for growth with a net efficiency (k_g) of 0.584. In the experiments of Jentsch et al. (1995) k_g values were in the range of 0.70 to 0.72. Within a programme aiming at

improving litter growth before weaning, the present experiment was made to identify likely causes of the inefficient utilization of milk protein by the IB suckling piglet. At this respect, three objectives were addressed: (1) monitoring changes in AA composition of sow milk and piglets' body; (2) identifying if there is in the IB sow milk one or more strongly limiting essential AA (EAA) for growth, and (3) determining AA requirements based on AA composition of growth. To deal with these objectives the following traits have been determined: a comparison has been made of the EAA profile in the sow milk and piglet tissues; the body retention of amino acids has been assessed using the comparative slaughter procedure; finally, the efficiency of use of milk AA for the accretion of piglet body proteins was calculated. Attention has been also paid to the AA composition of the retained protein, the primary factor determining at this stage of growth -in which maintenance needs are minor- the AA requirements for tissue growth.

Materials and Methods

Data reported in this study come from an experiment designed to identify the main causes of the slower growth rate observed in the IB suckling piglet in comparison with conventional or lean genotypes by an evaluation of nutrient supply and of the biological utilization of milk nutrients and energy by the sow-reared IB piglet. Details of animals and experimental procedures have been fully described by Aguinaga et al. (2010). Two trial replicates were made, each with eight pure-bred IB sows of similar genetic background, age and live weight, in their third pregnancy. Four sows were used for the assessment of milk

intake, litter growth and piglet nutrient balance, and the other four sows, for milk sample collection. The sows were housed in group in an open-air fenced 5000 m² space where they consumed restrictedly (1.8 kg/d for the first 70 days of pregnancy, progressively increased to 2.5 kg/d up to housing at the farrowing room) a gestation diet that contained per kg, as fed, 12.13 MJ ME, 140 g CP and 5.5 g Lys. The week prior to farrowing the sows were fed a lactation feed (per kg, as-fed basis: 12.76 MJ ME, 144 g CP, 6.8 g Lys) at a level of 1% of BW. On day of parturition they were offered 1.5 kg of this diet. Thereafter, daily food allowance was increased by 0.6 kg to reach 4.5 kg/d the fifth day of lactation, which was maintained onwards. Sows and litters were permanently provided with water, but litters had no access to creep feed or sow feed. Lights of similar intensity to daylight were permanently on. The environmental temperature of the farrowing room was 27±2°C in the first replicate and 22±2°C, in the second. The pens were equipped with a piglets' surface (1.20 x 0.40 m), thermo-regulated (33 - 35°C during the first week of life, declining steadily to 25 - 27°C at the end of the third week). In both replicates deliveries took place within a 2-day period. One piglet was killed at birth. Shortly after birth, the piglets were administered 200 mg Fe-dextran complex via i.m. injection, and litter size was equalized to six piglets by cross-fostering when necessary. In this case, piglets with extreme body weight were removed, irrespective of their gender. Milk intake was determined weekly, from day 5 of lactation, by the weigh-suckle-weigh technique, following Lewis et al. (1978). This method was assumed to be preferable when applied to large periods of lactation (as was the case of the present study) in comparison with the isotope dilution methodology (MacFarlane et al., 1969), because the latter requires preventing the

consumption of water, what would interact with the normal behaviour of piglets of over 3 to 4 weeks of age (Yang et al., 1980). To estimate milk intake repeated weighing of individual piglets, performed just before and after sucklings, was applied. Eight measurements at 75 min intervals were done each measurement day. The two first were discarded, as they resulted in comparatively lower values due to incomplete adaptation of piglets to management conditions. According to Speer and Cox (1984), this number of valid measurements would result in accurate estimations of sow milk yield. To avoid underestimation of the milk consumed by the piglets, corrections were made for piglets' weight losses during suckling due to activity metabolism, as described by Klaver et al. (1981), and fluids and faecal losses were also taken into account.

Piglets were weighed individually at birth and every seven days, early in the morning, prior to initiating a milk intake determination. The comparative slaughter procedure was used to determine nutrient and energy retention. Within each litter, one piglet at birth and four piglets at 35 d of age were anaesthetized and subsequently bled. Body components (eviscerated carcass - split into carcass, and head, feet and tail as a whole-, blood and viscera, including the emptied gastrointestinal tract) were weighed and kept at -20°C until analysis. The empty BW (EBW) at slaughter was calculated as the sum of hot carcass, blood and organs and viscera, including the empty gastro-intestinal tract. For each litter, the body amino acid composition of the four piglets slaughtered at day 35 was calculated based on the amino acid composition determined in the two pigs per litter analysed. Within trial replicate, average

data from the initial slaughter group were used to estimate the body composition of the other 16 piglets at birth. Milk samples were collected from four sows on days 5, 12, 19, 26 and 34 postpartum. After suckling, piglets were separated from the dam. Two hours later, the sows were injected with 10 IU oxytocin and the milk was collected from all functional glands by hand-milking. Samples were stored at -20°C until analysed. The procedure followed allowed the collection of a great volume of milk (>100 ml) from all functional glands without disrupting the suckling pattern of piglets involved in the nutrient balance measurements. It was assumed that within each trial the average milk composition calculated from the analysed individual samples from the four additional sows would be representative of the composition of the milk secreted by the sows used for the determination of milk intake and nutrients output.

Procedures used in these experiments were approved by the Bioethical Committee of Spanish National Research Council (CSIC).

Chemical Analysis

All analyses, in milk and in piglet tissues were performed in duplicate. The determination of DM content was carried out by standard procedures (AOAC, 1990). Whenever an analysis was made on a freeze-dried material a DM determination was performed on an aliquot sample, in a ventilated oven, by a standard procedure to establish residual water content after freeze-drying and the corresponding analytical result expressed in a DM basis (Barea et al., 2007). Total N was determined by a Kjeldahl procedure (AOAC, 1990) using fresh thawed sample in the case of milk, and freeze-dried samples in the case of body components. Non-protein N (NPN) was determined by the Kjeldahl method in the filtered supernatant obtained after precipitation of 2 ml of milk

with 8 ml of 10% trichloroacetic acid, as described by Klobasa et al. (1987). True protein (TP) in milk was determined as $(\text{Total N} - \text{NPN}) \times 6.38$.

Amino acids in milk and freeze-dried samples of piglets' body components were determined after hydrolysis in 6 N HCl plus 1% phenol in sealed, evacuated tubes at 110°C for 24 h by HPLC according to the Waters Pico Tag method (Cohen et al., 1989) with pre-column derivatization with phenylisothiocyanate using a Waters 2695 separation module (Waters Cromatografía, S. A., Spain). The method involves the use of two buffers (Buffer A: 94% of a solution containing 19 g sodium acetate trihydrate (Sigma, Madrid, Spain), 0.5 mL triethylamine (Sigma, Madrid, Spain) and 0.2 mL of a 10% EDTA (Sigma, Madrid, Spain) solution per liter of Milli-Q water; and 6% of acetonitrile; and Buffer B: 60% acetonitrile, 40% Milli-Q water plus 0.2 mL of a 10% EDTA (Sigma, Madrid, Spain). A Millennium 32 chromatography manager system was used for gradient control and data processing. In the case of milk AA content was corrected to 950 g/kg true protein. Cys and Met were determined in the form of cysteic acid and methionine sulphone after oxidation with performic acid before hydrolysis with 6 N HCl. Tryptophan was not determined. In the case of milk, the AA determination correspond to protein bound AA plus the free AA fraction. For piglet tissues, the AA analysis was performed in one piglet at birth and two piglets at 35 d of age for each litter.

Statistical treatment

Data on milk yield and milk nutrient composition were analysed by a repeated measures two-way ANOVA randomized design with period of lactation and trial replicate as main factors. As differences between the two trials were

rather small and trial effect was very seldom significant, the experimental data were re-arranged in a single trial and reanalysed by a repeated measures ANOVA using the MIXED procedure of SAS. Data on piglets' body protein AA composition and of protein and AA utilization were analysed by one-way ANOVA with trial replicate as variation factor by the GLM procedure of SAS (SAS, 2004). Piglet was considered as the experimental unit. As far as the AA composition of body protein, again trial effect was not significant and data were considered as belonging to one single trial. Results are expressed as least square means and SEM. Statistical significance was assessed using Tukey's t test. The level of significance was set to 5%.

Results

Total milk yield and milk composition

In both trials, the IB sows consumed their whole daily ration. Total milk yield was on average $5,175 \pm 157$ g/d in 34-d lactation, and tended to differ between trial replicates ($P = 0.090$; Aguinaga et al., 2010). Table 1 shows the effect of progress of lactation on protein and AA composition of the IB sow milk. No effect of trial replicate on CP and TP contents (g/kg fresh milk) was encountered ($P < 0.05$). Some differences in AA composition (g AA/kg true milk protein) were observed between the two trials. Most of them (Lys, Ile, Met, Glu and Ala) were small, although significant ($P < 0.05 - 0.001$). A notable difference in Leu content was found between trial replicates (69 vs. 76 g/kg TP in trials 1 and 2, respectively; $P < 0.05$). As differences between the two trials were rather small data in Table 1 are presented as obtained in one single trial. As lactation advanced, a sudden rise in CP and TP contents took place at the end of the

suckling period ($P < 0.001$). Changes in EAA content due to the stage of lactation were not observed, except for Lys which showed a tendency to increase over lactation ($P = 0.091$). Among NEAA, Cys and Ala decreased slightly with the progress of lactation ($P < 0.001$ and $P < 0.05$, respectively) and Asp tended to increase ($P = 0.055$). An average protein to energy ratio of 11.3 (10.0 - 13.1; Table 1) g/MJ GE across lactation was calculated.

Amino acid composition of the body protein of piglets

The amino acid profile of whole-body protein (WBP) of the IB piglets at birth and after 34 days of lactation, and of the protein deposited in their body is shown in Table 2. A noticeable increase in protein content was observed in the body of the piglets over lactation ($P < 0.001$). The present study indicates that the AA composition of the empty body of the suckling piglets was significantly altered by age. Among EAA, whole-body concentrations (g/kg WBP) of Val and Phe were higher at birth than at weaning ($P < 0.001$). Threonine tended to be also higher at birth ($P = 0.054$). On the contrary, the content of His in the whole-body of the IB piglets was higher at the end of lactation than in neonates ($P < 0.001$). Among NEAA, Glu tended to increase and Asp concentration was elevated in WBP of piglets at 34 days of age ($P = 0.057$ and $P < 0.05$), while the opposite trend was found for Ser and Cys ($P < 0.001$).

The WBP of piglets at weaning and the protein deposited in the whole body along the lactation period (PDWB) showed a very close AA pattern (Table 2). Differences in AA concentration never attained statistical significance. On

average, EAA accounted for 461 and 465 g/kg, and NEAA for 488 and 484 g/kg, for WBP at weaning and PDWB, respectively.

Amino acid balance in the suckling piglets

The average intake of milk per piglet in the 34-d lactation tended to be higher in Trial 2 ($P = 0.066$; Table 3). Although differences in daily supply of protein between TR did not attained statistical significance, the supply of Lys, Leu and Ile ($P < 0.05$; Table 3) and of Ala ($P < 0.01$, Table 4) were slightly higher and total supply of EAA tended to be higher ($P = 0.081$) in piglets of Trial 2. As an average, 16.9 and 18.5 g of EAA and 21.5 and 22.6 g of NEAA were daily supplied to the suckling piglets in Trial 1 and 2, respectively. However, the IB piglets grew at an average rate of 168 g/d, irrespective of TR. The daily rate of protein and AA deposition by the suckling IB piglet is also depicted in Tables 3 and 4. No significant changes in body deposition of protein, EAA and NEAA were found between trials. From our results an average value of 1.47 g N/kg $BW^{0.75}$ were retained daily. However, a decline of the overall efficiency of utilization of milk protein and most of the EAA was observed in Trial 2 ($P < 0.05 - 0.001$), subsequent to the slight increase in the supply of some EAA observed in this trial. His, Arg and Phe showed the highest fractional retentions (on average, 1.02, 0.913 and 0.780, respectively; Table 3). Among NEAA, only Ala and Pro showed lower fractional retentions in Trial 2 ($P < 0.001$ and $P < 0.05$). Glycine and Ala were deposited in the body of the piglets with efficiency much higher than 100%, indicating an important endogenous synthesis of these amino acids.

Discussion

Amino acid composition of milk

Protein and energy contents in the IB sow milk were within the range of values reported in the literature for conventional porcine breeds (Fahmy, 1972; Klobasa et al., 1987; Atwood and Hartman, 1992; Csapó et al., 1996). Also, concentrations found were for several AA (Lys, Phe, His, Glu, Ser, Tyr, Gly and Cys) within ranges reported for sows of conventional/lean breeds (Elliot et al., 1971; Duee and Jung, 1973; Cranwell and Moughan, 1989; Dourmad et al., 1991; King et al., 1993; Davis et al., 1994; Csapó et al., 1996; King, 1998). Branched-chain amino acids, Thr, Pro, Asp and Ala were in concentrations 12-16% below the range of literature values, while Arg and Met were about 30% above it. In our study, when expressed as g/kg TP, all EAA and most of NEAA remained unchanged as lactation progressed, in agreement with data reported by Elliot et al. (1971) and Csapó et al. (1996) for samples taken after the colostrum stage, what suggests a relative constancy in the pattern of protein fractions in the mature milk of the IB sow.

Amino acid composition and balance of piglets

Compared with piglets from conventional genotypes (Elliot and Lodge, 1977; Noblet and Etienne, 1986; Jentsch et al., 1995), the composition of the IB piglets at birth shows increased protein, fat and ash contents, and consequently, greater energy density (128.9 ± 2.8 , 26.4 ± 0.8 , and 40.0 ± 1.3 g/kg of CP, fat and ash, and 4.122 ± 0.064 MJ GE/kg). For comparison, Noblet and Etienne (1986), in Large White piglets, reported values of 115, 12 and 35

g/kg and 3.598 MJ/kg and Jentsch et al. (1995), in piglets of the German Landrace breed, obtained values of 108, 11 and 31 g/kg and 3.54 MJ/kg, respectively for CP, fat, ash and GE. Noticeably, fat content doubles reported values from those breeds. Compared with piglets from conventional breeds (Aumaitre and Duée, 1974; Wilson and Leibholz, 1981), the empty body of the IB suckling pig contains increased amounts of His, Arg, Met, Tyr and Lys (approx. 47, 25, 21, 16 and 14%, respectively) and lower concentrations of Asp, Glu and Ser (approx. 46, 20 and 13%, respectively). The markedly increased concentration of His in WBP of the IB piglet would imply enhanced His deficiency. This might contribute to explain the lower rate of protein accretion, poor efficiency of protein deposition and the higher efficiency of utilization of this amino acid for tissue growth when compared with conventional or lean suckling piglets (see below). On the other hand, the increased amounts of the EAA mentioned above would suggest comparatively higher net requirements.

There is a paucity of data on the efficiency of utilization of sow milk nutrients for maintenance and production in the suckling piglet. The very few experiments previously conducted on piglets suckled by the sow, in close resemblance of what happens under practical conditions (Noblet and Etienne, 1986 and 1987; Jentsch et al., 1995), reveal rates of protein deposition comparatively higher than those we have observed in the IB piglet (27.4 g protein, equivalent to $1.47 \text{ g N/kg BW}^{0.75}$ per day, on average; Aguinaga et al., 2010). From the data reported by Noblet and Etienne (1987) in Large White piglets weaned at 22 days of age, a mean value of $2.05 \text{ g N retained/kg BW}^{0.75}$ per day can be calculated. Jentsch et al. (1995), in piglets from German

Landrace sows weaned at 26 days of age, noticed that 1.68 g N /kg BW^{0.75} were retained daily. In both experiments the average intake of milk N per piglet was comparatively lower than that observed in the present experiment (2.33 and 2.25 vs. 2.45 g N/kg BW^{0.75} per day). Nevertheless, results must be analysed with care due to the large difference in the length of the lactation period involved. Furthermore, in the present study, the overall efficiency of utilization of the protein from the IB sow milk was rather poor in comparison with the ratios observed in suckling piglets from lean genotypes. Noblet and Etienne (1987) obtained a value as high as 0.88; Jentsch et al. (1995) reported a ratio of 0.74. In our experiment, the small increase in milk protein supply that occurred in Trial 2 caused a significant loss in the efficiency of protein deposition (from 0.619 to 0.571). This decrease is also observed when the efficiency is calculated relative to the intake of the milk TP fraction. Similarly, most of EAA were used for tissue deposition with lower efficiency in Trial 2. These data would suggest a limited capacity of the IB piglet for protein accretion that would limit tissue growth.

It is known that the value of body to milk ratio for each amino acid provides an estimation of the degree to which EAA are limiting for body growth. Those AA with the highest ratio are the most limiting and are expected to be used with the highest efficiency. His (1.50), Arg (1.41) and Phe (1.16) showed the highest ratios when AA proportion in the retained protein were compared to AA in milk, while Lys, Val, Thr and Ile presented ratios close to 1, indicating matched concentrations in milk- and body protein. Nevertheless, an AA ratio close to 1 may also suggest a limitation. An apparent excess of Met and Leu

was encountered. Davis et al. (1993), in their study on AA utilization in rat pups, and Tauson et al. (2003), in mink kits, found that Phe and His were among the EAA with highest ratios. Nevertheless, the data obtained for the AA balance (Table 3) provide the best indication of possible limitations of EAA. The growth of the IB suckling piglet would be limited, at least theoretically, by those EAA showing the highest efficiencies for tissue deposition. In the present experiment, His, Arg and Phe showed the highest efficiencies of incorporation to piglet's tissues (on average, 1.019 ± 0.025 , 0.913 ± 0.017 and 0.780 ± 0.015 , respectively). Wu et al. (2004) have demonstrated that Arg is remarkably insufficient for supporting the maximal growth in milk-fed young pigs and that increasing Arg supply has a great potential to improve the rate of growth in the sow-reared piglet. Endogenous synthesis of this amino acid from glutamine, glutamate and proline must occur to meet requirements for protein accretion and other needs. Nevertheless, the present results suggest that Arg is in the IB sow milk in concentrations about 30% higher than in the milk of sows from conventional or lean breeds (King, 1998), suggesting a comparatively lower deficiency in this amino acid. Concerning NEAA, the analysis of Gly in the IB sow milk and in piglet body results in a ratio of 2.75, which indicates that this amino acid is the most deficient in the sow milk, as previously reported by Wu et al. (2010). Correspondingly, Gly shows the highest efficiency of utilization for tissue deposition (1.803 ± 0.057 , on average; Table 4), followed by Ala (1.375 ± 0.026 , on average), which presented also high value of body to milk ratio (2.12, on average). The sow milk does not provide adequate amounts of Pro, Ala, Asp and Glu for protein synthesis (Wu, 2010). This shortage is enhanced in the milk from the IB sow which contains comparatively lower concentrations (13-16%) of

some of these non-essential amino acids (King, 2010). To our knowledge, no available data exists on incorporation of AA to body tissues in the sow-reared piglet. Wu et al. (2010) have reported that in 14-day-old pigs reared by sows 70% of dietary AA are deposited in body proteins. In our experiment, from data reported in Tables 3 and 4, an average coefficient of 65% can be calculated. In artificial-reared pigs given at 7 to 28 days of age a liquid diet in which cow milk was the single source of protein, Wilson and Leibholz (1981) found that Gly, Ala, Arg and Asp showed the highest values for the fractional retention of the apparently absorbed amino acids (3.632, 1.710, 1.648 and 1.020, respectively). The overall efficiency of N retention was 0.667.

Based on the examination of values obtained for the efficiency of utilization of AA for tissue deposition and also on the highest ratios observed when AA concentrations in retained protein are compared to AA in milk, it appears that His, Arg, Gly and Ala are the main limiting amino acids for protein accretion in the suckling IB piglet. While Arg, Gly and Ala are also provided in insufficient amounts to support optimal protein accretion in piglets suckling conventional or lean sows, His is not there limiting, a fact which might explain the comparatively lower rate of growth of the IB suckling piglet. An additional cause of the poor conversion of IB sow milk protein into body protein might be related to high protein turnover rates, as we have found in the IB pig at a later stage of growth (Rivera-Ferre et al., 2005). Specifically, we found that IB pigs fed balanced protein to energy diets had higher muscle fractional protein synthesis rates than Landrace pigs, although muscle mass was smaller, which suggests also high fractional protein degradation rates.

Conclusion

The supply of protein from the IB sow milk to the suckling piglet is similar to that reported in conventional or lean breeds. However, branched-chain amino acids, Thr, Pro, Asp and Ala are in concentrations somewhat below the range and Arg and Met, substantially above it. His and Arg, among the EAA, and Gly and Ala, as NEAA, are identified as the most limiting amino acids, responsible for the low rate of growth and protein accretion of the IB suckling piglet. Increased supply of these amino acids may result in substantial improvements in these traits. Further research is needed to challenge this hypothesis.

Acknowledgements

This study has been supported by Junta de Andalucía grant No. AGR-395. M.A. Aguinaga was recipient of a grant from Junta de Andalucía. We thank A. Navarro and F. Funes for skillful technical assistance, and Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A. (Seville) for their helpful collaboration.

References

- Aguinaga, M. A.; Gómez-Carballar, F; Navarro, A. I.; Nieto, R.; Aguilera, J. F., 2010: Milk intake and protein and energy deposition in the suckling Iberian piglet. In: Crovetto, M. G. (ed.), Energy and protein metabolism and nutrition. EAAP Publ. No. 127, pp. 379-380. Wageningen Academic Publishers. Parma, Italy.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th ed. Assoc. Off. Anal. Chem., Arlington, VA.

- Atwood, C. S.; Hartmann, P. E., 1992. Collection of fore and hind milk from the sow and the changes in milk composition during suckling. *Journal of Dairy Research* **59**, 287-298.
- Aumaitre, A.; Duée, P. H. 1974 : Composition en acides aminés des protéines corporelles du porcelet entre la naissance et l'âge de huit semaines. *Annales de Zootechnie* **23**, 231-236.
- Barea, R.; Nieto, R.; Aguilera, J. F., 2007: Effects of the dietary protein content and the feeding level on protein and energy metabolism in IB pigs growing from 50 to 100 kg body weight. *Animal* **1**, 357-365.
- Cohen, S. A.; Meys, M.; Tarvin, T. L., 1989: *The Pico-Tag method. A manual of advanced techniques for amino acid analysis*. Millipore Corporation Bedford, MA.
- Cranwell, P. D; Moughan, P. J., 1989: Biological limitation imposed by the digestive system to the growth performance of weaned pigs. In: Barnett, J. L. and Hennessy, D. P. (ed.), *Manipulating Pig Production II*. Australasian Pig Science Association, pp. 140-159. Werribee, Victoria, Australia.
- Csapó, J.; Martin, T. G.; Csapó-Kiss, Z. S.; Házás, Z., 1996: Protein, fats, vitamin and mineral concentrations in porcine colostrum and milk from parturition to 60 days. *International Dairy Journal* **6**, 881-902.
- Davis, T. A.; Fiorotto, M. L.; Reeds, P. J., 1993: Amino acid composition of body and milk protein change during the suckling period in rats. *Journal of Nutrition* **123**, 947-956.
- Davis, T. A.; Nguyen, H. V.; García-Bravo, R.; Fiorotto, M. L.; Jackson, E. M.; Reeds P. J., 1994: Amino acid composition of the milk of some mammalian

- species. Changes with the stage of lactation. *British Journal of Nutrition* **72**, 845-853.
- Daza, A., 2001: Sistemas de explotación. In: Buxadé Carbó, C. and Daza Andrada, A. (ed.), *Porcino Ibérico: aspectos claves*, pp. 151-175. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Dourmad, J. Y.; Etienne, M.; Noblet, J., 1991 : A contribution to the study of amino acid requirement for lactation in sows. *Journées de Recherches Porcines en France* **23**, 61-68.
- Duee, P. H.; Jung, J., 1973: Amino acid composition of sow's milk. *Annales de Zootechnie* **22**, 243-247.
- Elliot, J. I.; Lodge, G. A., 1977: Body composition and glycogen reserves in the neonatal pig during the first 96 hours postpartum. *Canadian Journal of Animal Science* **57**, 141-150.
- Elliott, R. F.; Vander Noot, G. W.; Gilbreath, R. L.; Fisher, H., 1971: Effect of dietary protein level on composition changes in sow colostrum and milk. *Journal of Animal Science* **32**, 1128-1137.
- Fahmy, M. H., 1972: Comparative study of colostrum and milk composition of seven breeds of swine. *Canadian Journal of Animal Science* **52**, 621-627.
- Gómez-Carballar, F.; Aguinaga, M. A.; Nieto, R.; Aguilera, J. F., 2009: Effects of intermittent suckling on the performance and digestive efficiency of Iberian piglets weaned at 35 days of age. *Livestock Science* **124**, 41-47.
- Jentsch, W.; Beyer, M.; Schiemann, R.; Hoffmann, L., 1995: Untersuchungen zum energie- und stickstoffumsatz van graviden und laktierenden sauen sowie von saugferkeln. 7.Mitteilung – Energie- und Stickstoffumsatz von Saugferkeln. *Archiv für Tierernährung* **47**, 319-344.

- King, R. H. 1998: Dietary amino acids and milk production. In: Verstegen, M. W. A.; Moughan, P. J. and Scharama, J. W (ed.), *The lactating sow*, pp.131-141. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- King, R. H.; Rayner, C. J.; Kerr, M., 1993: A note on the amino acid composition of sow's milk. *Animal Production* **57**, 500-502.
- Klaver, J.; van Kempen, G. J. M.; de Lange, P. G. B.; Verstegen, M. W. A.; Boer, H., 1981: Milk composition and daily yield of different milk components as affected by sow condition and lactation/feeding regimen. *Journal of Animal Science* **52**, 1091-1097.
- Klobasa, F.; Werhahn, E.; Butler, J. E., 1987: Composition of sow milk during lactation. *Journal of Animal Science* **64**, 1458-1466.
- Laguna Sanz, E. 1998: In: *El cerdo Ibérico en el próximo milenio*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, Spain.
- Lewis, J. A.; Speer, V. C.; Haight, D. G., 1978: Relationship between yield and composition of sows' milk and weight gains of nursing pigs. *Journal of Animal Science* **47**, 634-638.
- MacFarlane, W. V.; Howard, B.; Siebert, B. D. 1969: Tritiated water in the measurement of milk intake and tissue growth of ruminants in the field. *Nature* **221**, 578-579.
- Noblet, J.; Etienne, M., 1986: Effect of energy level in lactating sows on yield and composition of milk and nutrient balance of piglets. *Journal of Animal Science* **63**, 1888-1896.
- Noblet, J.; Etienne, M., 1987: Body composition, metabolic rate and utilization of milk nutrients in suckling piglets. *Reproduction, Nutrition and Development* **27**, 829-839.

- Noblet, J.; Etienne, M.; Dourmand, J. Y. 1998: Energetic efficiency of milk production. In: Verstegen, M. W. A.; Moughan, P. J. and Schrama, J. W (ed.), *The lactating sow*, pp.113-130. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- Pluske, J. R.; Dong, G. Z., 1998: Factors influencing the utilisation of colostrum and milk. In: Verstegen, M. W. A.; Moughan, P. J. and Schrama, J. W (ed.), *The lactating sow*, pp. 45-70. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- Rivera-Ferre, M. G.; Aguilera, J. F.; Nieto, R., 2005: Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate or lysine-deficient diets. *Journal of Nutrition* **135**, 469-478.
- SAS Institute, 2004: *SAS/STAT User's guide, Version 9.1.2*. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Tauson, A. H.; Fink, R.; Chwalibog, A; Hansen, N. E., 2003: Utilisation of essential milk amino acids for body gain in mink kits. In: Souffrant, W. B. and Metges, C. C. (ed.), *Progress in research on energy and protein metabolism*. EAAP Publ. No. 109, pp. 817-820. Rostock-Warnemünde, Germany.
- Wilson, R. H.; Leibholz, J., 1981: Digestion in the pig between 7 and 35 d of age 5. The incorporation of amino acids absorbed in the small intestines into the empty-body gain of pigs given milk or soya-bean proteins. *British Journal of Nutrition* **45**, 359-366.
- Yang, T. S.; Howard, B.; MacFarlane, W. V. 1980: A note on milk intake of piglets measured by tritium dilution. *Animal Production* **31**, 201–203.

Table 1. The effect of days on lactation on AA composition of the true protein in Iberian sows' milk (n = 4 sows in each of the two trials performed).

| | Days on lactation (dL) | | | | | SEM | P-value ¹ |
|----------------------------------|------------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|---------------------------------|-------|----------------------|
| | d 5 | d 12 | d 19 | d 26 | d 34 | | |
| Milk yield, kg | 4.479 ^a | 5.834 ^b | 5.452 ^c | 5.176 ^c | 5.427 ^b _c | 0.165 | 0.001 |
| Total solids, g/kg | 182 | 184 | 177 | 174 | 180 | 4.29 | 0.686 |
| CP (total N x 6.38), g/kg | 53 ^{ab} | 49 ^b | 51 ^{ab} | 52 ^{ab} | 60 ^c | 1.01 | 0.001 |
| True protein (TP), g/kg | 49 ^{ac} | 45 ^b | 47 ^{ab} | 48 ^{ab} | 54 ^c | 0.97 | 0.001 |
| Gross energy, MJ/kg | 4.795 | 4.897 | 4.537 | 4.419 | 4.585 | 0.157 | 0.445 |
| Essential AA, g/kg TP | | | | | | | |
| Lysine | 78 ^{ab} | 76 ^a | 78 ^{ab} | 77 ^a ^b | 83 ^b | 1.05 | 0.091 |
| Leucine | 74 ^a | 74 ^{ab} | 73 ^{ab} | 69 ^b | 73 ^{ab} | 1.58 | 0.354 |
| Arginine | 65 | 64 | 65 | 65 | 64 | 0.77 | 0.947 |
| Valine | 43 ^a | 43 ^{ab} | 43 ^{ab} | 41 ^b | 43 ^{ab} | 0.28 | 0.372 |
| Threonine | 36 | 36 | 35 | 37 | 36 | 0.34 | 0.543 |
| Phenylalanine | 33 | 38 | 38 | 36 | 39 | 1.06 | 0.377 |
| Histidine | 31 ^{ab} | 30 ^a | 30 ^{ab} | 31 ^{ab} | 31 ^b | 0.26 | 0.219 |
| Isoleucine | 35 | 35 | 35 | 35 | 36 | 0.42 | 0.631 |
| Methionine | 25 | 26 | 27 | 26 | 25 | 0.65 | 0.417 |

Table 1. (continuation)

| | Days on lactation (dL) | | | | | SEM | P-value ¹ |
|----------------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------|----------------------|
| | d 5 | d 12 | d 19 | d 26 | d 34 | | |
| Non-essential AA, g/kg TP | | | | | | | |
| Glutamic acid | 185 | 187 | 188 | 193 | 188 | 3.23 | 0.435 |
| Proline | 106 | 106 | 108 | 104 | 110 | 1.23 | 0.625 |
| Aspartic acid | 71 ^a | 69 ^{ab} | 66 ^{bc} | 70 ^{ac} | 65 ^{bc} | 0.67 | 0.055 |
| Serine | 49 | 48 | 48 | 49 | 48 | 0.43 | 0.600 |
| Tyrosine | 39 | 39 | 39 | 40 | 35 | 0.96 | 0.682 |
| Glycine | 33 ^a | 33 ^{ab} | 33 ^{ab} | 34 ^b | 33 ^{ab} | 0.16 | 0.243 |
| Alanine | 31 ^a | 31 ^a | 30 ^{ab} | 30 ^{ab} | 29 ^b | 0.63 | 0.020 |
| Cysteine | 16 ^a | 15 ^{ab} | 14 ^b | 14 ^{bc} | 12 ^c | 0.32 | 0.001 |

¹dLx TR interactions were never significant

Table 2. AA composition of the whole-body protein (WBP) of Iberian piglets at birth and at 35 d of age and of the protein deposited in the whole-body (PDWB)

| Item | At birth ¹ | After 34-d lactation ² | PDWB | SEM | P-value |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------|-----|---------|
| Empty BW ³ , kg | 1.36 ± 0.02 | 6.78 ± 0.11 | | | |
| Empty-body gain ⁴ , g/d | | 159 ± 3.1 | | | |
| Protein ⁴ , g/kg empty BW | 129 | 163 | | 1.0 | 0.001 |
| Essential AA, g/kg WBP | | | | | |
| Lysine | 77 | 79 | 80 | 0.7 | 0.251 |
| Leucine | 67 | 65 | 65 | 0.4 | 0.192 |
| Arginine | 89 | 90 | 90 | 0.4 | 0.555 |
| Valine | 48 ^a | 45 ^b | 45 ^b | 0.3 | 0.001 |
| Threonine | 39 | 38 | 38 | 0.2 | 0.054 |
| Phenylalanine | 45 ^a | 43 ^b | 44 ^b | 0.2 | 0.001 |
| Histidine | 42 ^b | 47 ^a | 49 ^a | 0.4 | 0.001 |
| Isoleucine | 34 ^b | 35 ^{ab} | 36 ^a | 0.2 | 0.035 |
| Methionine | 22 | 21 | 22 | 0.3 | 0.568 |
| ∑ Essential AA | 464 | 461 | 465 | 1.6 | 0.531 |

Table 2. (continuation)

| Item | At birth ¹ | After 34-d lactation ² | PDWB | SEM | P-value |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------|-----|---------|
| Non-essential AA, g/kg WBP | | | | | |
| Glutamic acid | 109 | 113 | 111 | 0.5 | 0.057 |
| Proline | 66 | 67 | 66 | 0.6 | 0.879 |
| Aspartic acid | 62 ^b | 67 ^a | 67 ^a | 0.7 | 0.040 |
| Serine | 43 ^a | 38 ^b | 37 ^b | 0.2 | 0.001 |
| Tyrosine | 34 | 33 | 35 | 0.3 | 0.146 |
| Glycine | 89 | 93 | 91 | 1.1 | 0.453 |
| Alanine | 64 | 64 | 63 | 0.3 | 0.328 |
| Cysteine | 18 ^a | 13 ^b | 13 ^b | 0.5 | 0.001 |
| Σ Non-essential AA | 486 | 488 | 484 | 1.6 | 0.527 |

¹Protein and AA composition were determined in 4 piglets in each of the two trials performed.

²AA composition was determined in 8 (4 x 2) piglets in each of the two trials performed.

³Estimated in 16 (4 x 4) piglets in each of the two trials at birth, and determined in 16 (4 x 4) piglets in each of the two trials at weaning (35 d of age).

⁴Determined in 16 (4 x 4) piglets in each of the two trials at weaning (35 d of age).

Table 3. Utilization of essential AA in milk by the suckling Iberian piglet throughout 34-d lactation¹

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|--------------------------------------|-----------------|---------|--------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| BW at birth², kg | 1.40 | 1.42 | 19.481 | 0.740 |
| BW at weaning², kg | 7.02 | 7.23 | 0.12 | 0.380 |
| BW gain², g/d | 165 | 171 | 3.3 | 0.378 |
| Intake, g/d | | | | |
| Milk | 832 | 893 | 16.2 | 0.066 |
| CP (N x 6.38) | 44.3 | 47.5 | 1.1 | 0.177 |
| True protein (TP) | 40.4 | 43.2 | 1.0 | 0.173 |
| Lysine | 3.09 | 3.47 | 0.08 | 0.028 |
| Leucine | 2.80 | 3.28 | 0.07 | 0.005 |
| Arginine | 2.60 | 2.78 | 0.06 | 0.173 |
| Valine | 1.72 | 1.84 | 0.04 | 0.173 |
| Threonine | 1.45 | 1.56 | 0.04 | 0.174 |
| Phenylalanine | 1.48 | 1.59 | 0.04 | 0.173 |
| Histidine | 1.24 | 1.33 | 0.03 | 0.172 |
| Isoleucine | 1.39 | 1.56 | 0.04 | 0.031 |
| Methionine | 1.09 | 1.04 | 0.03 | 0.320 |
| ∑ Essential AA | 16.9 | 18.5 | 0.4 | 0.081 |

Table 3. (continuation)

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|---|-----------------|---------|------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| Protein and EAA deposited in the whole-body, g/d | | | | |
| Protein³ | 27.0 | 27.7 | 0.52 | 0.504 |
| Lysine | 2.17 | 2.19 | 0.05 | 0.830 |
| Leucine | 1.79 | 1.73 | 0.04 | 0.432 |
| Arginine | 2.43 | 2.47 | 0.07 | 0.722 |
| Valine | 1.25 | 1.18 | 0.03 | 0.266 |
| Threonine | 1.04 | 1.03 | 0.03 | 0.828 |
| Phenylalanine | 1.22 | 1.16 | 0.03 | 0.347 |
| Histidine | 1.29 | 1.33 | 0.05 | 0.695 |
| Isoleucine | 1.00 | 0.95 | 0.02 | 0.284 |
| Methionine | 0.60 | 0.60 | 0.02 | 0.921 |
| ∑ Essential AA | 12.8 | 12.6 | 0.3 | 0.799 |

Table 3 (continuation)

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|---|-----------------|---------|-------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| Prot deposited/milk CP intake, g/g | 0.619 | 0.571 | 0.009 | 0.016 |
| Prot deposited/milk TP intake, g/g | 0.678 | 0.627 | 0.011 | 0.041 |
| EAA deposited/milk AA intake, g/g | | | | |
| Lysine | 0.705 | 0.633 | 0.014 | 0.023 |
| Leucine | 0.644 | 0.526 | 0.012 | 0.001 |
| Arginine | 0.936 | 0.889 | 0.017 | 0.176 |
| Valine | 0.731 | 0.641 | 0.014 | 0.005 |
| Threonine | 0.716 | 0.659 | 0.014 | 0.051 |
| Phenylalanine | 0.828 | 0.731 | 0.015 | 0.007 |
| Histidine | 1.043 | 0.995 | 0.025 | 0.363 |
| Isoleucine | 0.721 | 0.606 | 0.011 | 0.001 |
| Methionine | 0.548 | 0.571 | 0.014 | 0.409 |
| ∑ Essential AA | 0.761 | 0.686 | 0.013 | 0.010 |

¹Determined by the comparative slaughter approach in 8 (4 x 2) piglets in each of the two trials performed.

²Determined in 24 (4 x 6) piglets in each of the two trials performed.

³Determined in 16 (4 x 4) piglets in each of the two trials performed.

Table 4. Utilization of non-essential AA in milk by the suckling Iberian piglet throughout 34-d lactation¹

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|--------------------------------------|-----------------|---------|--------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| BW at birth², kg | 1.40 | 1.42 | 19.481 | 0.740 |
| BW at weaning², kg | 7.02 | 7.23 | 0.12 | 0.380 |
| BW gain², g/d | 165 | 171 | 3.3 | 0.378 |
| Intake, g/d | | | | |
| Milk | 832 | 893 | 16.2 | 0.066 |
| CP (N x 6.38) | 44.3 | 47.5 | 1.1 | 0.177 |
| True protein (TP) | 40.4 | 43.2 | 1.0 | 0.173 |
| Glutamic acid | 7.86 | 8.83 | 0.19 | 0.937 |
| Proline | 4.32 | 4.62 | 0.11 | 0.174 |
| Aspartic acid | 2.75 | 2.95 | 0.07 | 0.173 |
| Serine | 1.95 | 2.08 | 0.05 | 0.173 |
| Tyrosine | 1.55 | 1.66 | 0.04 | 0.172 |
| Glycine | 1.34 | 1.44 | 0.03 | 0.174 |
| Alanine | 1.16 | 1.37 | 0.03 | 0.003 |
| Cysteine | 0.57 | 0.62 | 0.01 | 0.170 |
| ∑ Non-essential AA | 21.5 | 22.6 | 0.5 | 0.326 |

Table 4. (continuation)

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|--|-----------------|---------|------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| Protein and NEAA deposited in the whole-body, g/d | | | | |
| Protein³ | 27.0 | 27.7 | 0.5 | 0.504 |
| Glutamic acid | 3.01 | 3.07 | 0.07 | 0.688 |
| Proline | 1.83 | 1.78 | 0.07 | 0.707 |
| Aspartic acid | 1.79 | 1.87 | 0.05 | 0.475 |
| Serine | 1.03 | 1.03 | 0.03 | 0.968 |
| Tyrosine | 0.95 | 0.95 | 0.03 | 0.983 |
| Glycine | 2.53 | 2.48 | 0.11 | 0.815 |
| Alanine | 1.75 | 1.69 | 0.05 | 0.581 |
| Cysteine | 0.37 | 0.36 | 0.01 | 0.934 |
| ∑ Non-essential AA | 13.3 | 13.2 | 0.4 | 0.961 |

Table 4. (continuation)

| Item | Trial replicate | | SEM | P-value |
|---|-----------------|---------|--------|---------|
| | Trial 1 | Trial 2 | | |
| Prot deposited/milk CP intake, g/g | 0.619 | 0.571 | 0.0094 | 0.016 |
| Prot deposited/milk TP intake, g/g | 0.678 | 0.627 | 0.0113 | 0.041 |
| NEAA deposited/milk AA intake, g/g | | | | |
| Glutamic acid | 0.384 | 0.391 | 0.006 | 0.556 |
| Proline | 0.426 | 0.381 | 0.010 | 0.049 |
| Aspartic acid | 0.656 | 0.633 | 0.016 | 0.479 |
| Serine | 0.529 | 0.491 | 0.011 | 0.120 |
| Tyrosine | 0.613 | 0.570 | 0.012 | 0.110 |
| Glycine | 1.886 | 1.719 | 0.057 | 0.166 |
| Alanine | 1.516 | 1.234 | 0.026 | 0.001 |
| Cysteine | 0.639 | 0.591 | 0.015 | 0.146 |
| ∑ Non-essential AA | 0.616 | 0.584 | 0.012 | 0.185 |

¹Determined by the comparative slaughter approach in 8 (4 x 2) piglets in each of the two trials performed.

²Determined in 24 (4 x 6) piglets in each of the two trials performed.

³Determined in 16 (4 x 4) piglets in each of the two trials performed.

6. Incorporation Of Lysine From Microbial Origin Into Tissue Protein Of Iberian And Landrace X Large White Piglets

**Incorporation of lysine from microbial origin into tissue protein of Iberian
and Landrace × Large White piglets**

Aguinaga, M.A., Conde-Aguilera, J.A., Ruiz-Guerrero, V., Navarro A.I., Aguilera,
J.F. and Nieto R*.

Instituto de Nutrición Animal (IFNA), Estación Experimental del Zaidín, Spanish
National Research Council (CSIC), Camino del jueves s/n, 18100, Armilla,
Granada, Spain

*Corresponding author. Tel.: + 34 958 572757; Fax: + 34 958 572753

e-mail address: rosa.nieto@eez.csic.es

Abstract

The distinct incorporation of lysine from microbial origin in tissues has been investigated in Iberian and Landrace × Large White piglets of 47 ± 3 d of age ($n= 8/\text{genotype}$) given ^{15}N -labelled ammonium sulphate added to the diet. Four piglets of each breed were allocated in metabolic cages to prevent coprophagy. All piglets consumed the labelled diet for 10 days and then were slaughtered. Viscera and carcass weights were recorded and gastrointestinal tissues carefully handled. Samples of carcass, liver, and bacterial pellets isolated from the last third of the small intestine, were hydrolysed, desalted by ion-exchange, and the amino acids eluted analyzed for ^{15}N -lysine enrichment in a GC–combustion/isotope ratio mass-spectrometer. Background ^{15}N -lysine in tissues was also determined in 3 piglets per breed. Liver enrichment was considerably higher in Landrace × Large White than in Iberian piglets (0.0273 ± 0.0013 vs. 0.0167 ± 0.0013 APE, $P<0.05$) what, opposite to our expectations, suggests higher incorporation of microbial lysine in tissues of Landrace × Large White piglets. Protein shortage in the experimental diet relative to requirements could have enhanced microbial lysine absorption in the conventional piglets.

Keywords:

Iberian pigs, microbial lysine, ^{15}N - lysine, pig tissues, pig genotypes

1. Introduction

The absorption of amino acids from microbial origin has been demonstrated in several species of monogastric mammals including the pig. As lysine does not undergo transamination in mammalian tissues (Bender, 1985), the administration of a source of inorganic ^{15}N and the appearance of ^{15}N -lysine in the host tissues indicates its microbial origin. Previous research suggested that Iberian gilts were comparatively less affected by a similar lysine deficiency than Landrace gilts of similar body weight (Rivera Ferre et al., 2006). Based on this observation as well as in the higher relative size of the gastrointestinal tissues in pigs of the Iberian breed (Rivera-Ferre et al. 2005), we hypothesized that the Iberian pigs may benefit from a relatively higher absorption of lysine from microbial origin.

2. Materials and methods

2.1. *Experimental protocol*

The experiment was performed with 22 castrated male piglets. Half of them were purebred Iberian of Silvela strain (Ib) and the rest Landrace x Large White (Ld × LW) with 48 ± 2 and 45 ± 2 d of age, and 11.1 ± 0.36 and 12.3 ± 0.34 kg initial BW, respectively. They were housed in individual pens of 2 m² size located in an environmental controlled room (25 ± 1.5 C) where they adapted to the experimental diet (unlabelled) for a week. After that, 8 piglets from each breed were switched to the labelled diet and half of them (4 per

breed) were allocated in metabolic cages to prevent coprophagy. The remaining 3 piglets per breed consumed the unlabelled diet to determine background ¹⁵N-lysine in tissues. Pigs consumed the labelled diet for 10 days before being slaughtered. A preliminary study showed that this period of dosing was sufficient to attain measurable ¹⁵N-lysine in muscle. The experimental diet contained (g/kg): barley (360), soybean meal (90), fish meal (40), maize starch (335), sugar (100), minerals, vitamins and amino acids (35); cellulose (30) and ammonium sulphate (10; either 10% labelled ¹⁵N₂ or unlabelled). It provided 129 g CP (9.03 g Lys) and 13.8 MJ ME /Kg DM. Piglets were fed twice daily at approximately 0.9 × *ad libitum* intake of 1b piglets. On slaughter day, animals were fed three hours before they were electrically stunned and bled. Viscera and carcass weights were recorded and gastrointestinal tissues carefully handled. The small intestine content was divided in approximately three equal length parts and aliquots were taken. Caecum and colon contents were also sampled for some pigs. All samples were stored at -20°C until analyses.

The experimental protocol was approved by the Bioethical Committee of the Spanish National Research Council (CSIC).

2.2 Sample preparation

Carcass and liver were homogenised separately. Representative aliquots were freeze-dried and ground using liquid nitrogen. Samples from the content of the last third of the small intestine were processed to isolate bacteria as described by Belenguer et al. (2005). Briefly, samples (app. 100 ml.) were

diluted in methylcellulose solution and chilled at 4° C for 24h. Bacteria were isolated by differential centrifugation (500 g for 5 min, followed by two consecutive centrifugations of the supernatant at 20 000 g for 20 min a 4° C) and the pellets obtained were freeze-dried.

2.3 Analytical procedures

Total N in tissues (carcass and liver) and bacterial pellets was determined by the Dumas combustion method (TruSpec CN, Leco Corporation, USA). Aliquots equivalent to 25 mg of protein from tissues and 15 mg of protein from bacterial pellets were hydrolysed with distilled constant boiling 5.6 M-HCl (110°C for 24 h). Samples were filtered, dried in a sample concentrator (SpeedVac, Thermo Savant Instruments Inc.) and desalted by ion-exchange chromatography (Dowex 50W X8-200 resin, H⁺ form; Sigma Chemical Co.) and the amino acids eluted with 2 M-NH₄OH. To determine ¹⁵N-lysine enrichment amino acids were converted to their t-butyldimethylsilyl derivatives prior to analysis by GC–combustion/isotope ratio mass-spectrometer (ThermoFinnigan Deltaplus XL, ThermoFinnigan, Bremen, Germany). The ratio of m/z 28:29 was measured and compared with reference, O₂-free N₂ gas.

2.4 Statistical analysis

Experimental data were subjected to analysis of variance by means of a computer software package (StatGraphics Centurion XV, version 15.2.06, StatPoint Inc.) with genotype (Ib or Ld × LW) and allocation (pen or metabolic cage) in a 2 × 2 factorial arrangement for BW, feed intake, average daily gain,

and proportions of body components to empty BW; or, genotype, allocation and sampling site (liver, carcass or ileum bacterial pellets) in a 2 × 2 × 3 factorial analysis. The allocation factor was never significant and all analyses were rearranged accordingly. Results are expressed as least square means and S.E.M. When interaction was significant average treatment values were studied by one-way ANOVA.

3. Results and discussion

There were no significant differences in final weights of the piglets when the experiment was finished, neither in the average daily amount of feed consumed (Table 1). The total dose of ¹⁵N received was 1.6 g/pig. Average daily gain showed no significant differences between breeds. Despite the similarity of body weight at slaughter, the proportions of viscera and carcass to empty body weight (eBW) differed considerably between both pig genotypes (Table 1).

Allocation of the pigs did not have any significant effect on ¹⁵N-lysine enrichment detected in tissues. The enrichment data were subsequently re-analysed in a 2 × 3 factorial arrangement and the results obtained are shown in Table 2. The fact that pigs in metabolic cages showed no different ¹⁵N-lysine enrichment in tissues from those moving freely through the pen could indicate that the latter did not practice coprophagy. In the rearranged statistical analysis both pig genotype (P<0.05) and sampling site (P<0.001) had a significant effect

on enrichment. The genotype × sampling site interaction was also significant ($P < 0.01$). Consequently, the data were analysed by a one-way ANOVA (Table 2). ^{15}N -lysine enrichment in carcass did not differ between genotypes, although both values were significantly lower than their corresponding liver ^{15}N -lysine enrichment ($P < 0.05$; Table 2). Liver enrichment was considerably higher in Ld × LW than in Ib piglets. The large difference in enrichment between carcass and liver is based on the dissimilar protein turnover rates of these body components. Liver has a fractional rate of protein synthesis of app. 45%/d, meanwhile in muscle it is only 7%/d (Rivera-Ferre et al., 2005). Thus, liver probably reached plateau for ^{15}N -lysine enrichment after 10 days of ingestion of the label but muscle (carcass) did not. Then, liver ^{15}N -lysine enrichment can give an estimation of microbial lysine incorporation in the present experimental conditions. In order to calculate the actual contribution of microbial lysine to pig tissues we need to know the ^{15}N -lysine enrichment of the microbial precursor. Based on previous work in pigs (Torrallardona et al., 2003a, 2003b) we assumed that bacteria isolated from the last third of the small intestine would be an adequate sample for this purpose. However, the ^{15}N -lysine enrichments determined in this fraction were close to those found in the pig tissues, intermediate between carcass and liver values, and with no difference between genotypes (Table 2). These results seem to indicate that the ileal bacteria sampled by the time of slaughter are using preferentially endogenous N sources like urea and amino acids to synthesize bacterial protein instead of (^{15}N -labelled) NH_3 from the dietary source. The microbial synthesis of lysine from highly labelled NH_3 and its possible absorption is likely to occur very rapidly,

and the sampling (terminal) procedure of the present work probably has missed the right bacterial precursor. The evidence available suggests that in pigs and man microbial amino acid absorption occurs in the small intestine (Torrallardona et al. 2003a, 2003b; Metges and Petzke, 2005) although in rodents (Torrallardona et al. 1996) and lagomorphs (Belenguer et al. 2005) this process is associated to the ingestion of faecal or caecal microbial protein. The results obtained with regards to ¹⁵N-lysine enrichment in small intestine bacteria prevent the calculation of the contribution of bacterial lysine to total tissue lysine in the experimental piglets. However, assuming a similar enrichment between both pig types, as they had similar intakes, we can suggest that the incorporation was higher in Ld × LW piglets based on their higher liver ¹⁵N-lysine enrichment. This is opposite to our initial hypothesis based in the lower sensitivity to lysine deficiency and higher weights of GIT tissues in the Ib pigs. As the experimental diet had a protein shortage, this could have enhanced microbial lysine absorption and incorporation in body tissues of the Ld × LW piglets since they have higher protein requirements (Rivera-Ferre et al. 2006). Nevertheless, further research is necessary to confirm this finding, to unravel the true N source of the bacterial lysine incorporated to pig tissues and to discern if this process turns out in any additional benefit to the animal.

Acknowledgments

This study was supported by Spanish MICINN grant No. AGL2005-1652. We thank Mr. Eric Milne for mass spectrometry analyses and Dr. Gerald E. Lobley for his helpful suggestions. We thank also Francisco Funes for animal

care and Sánchez Romero Carvajal Jabugo S.A. (Seville) for their helpful collaboration.

References

- Association of Official Analytical Chemists, 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th edition. Assoc. AOAC, Arlington, VA.
- Belenguer, A., Balcells, J., Guada, J.A., Decoux, M. and Milne, E., 2005. Protein recycling in growing rabbits: contribution of microbial lysine to amino acid metabolism. *Br. J. Nutr.* 94, 763-770.
- Bender, D. A. (1985). Amino acid metabolism. Chester: John Wiley & Sons.
- Metges, C. C. and Petzke, K. J., 2005. Utilization of essential amino acids synthesized in the intestinal microbiota of monogastric mammals. *Br. J. Nutr.* 94, 621-622.
- Rivera-Ferre M.G., Aguilera, J.F. and Nieto, R., 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than in Landrace growing pigs fed adequate of lysine deficient diets. *J. Nutr.* 135, 469-478.
- Rivera-Ferre M.G., Aguilera, J.F. and Nieto, R., 2006. Differences in whole-body protein turnover between Iberian and Landrace pigs fed adequate or lysine deficient diets. *J. Anim. Sci.* 84, 3346-3355.
- Torrallardona, D., Harris, C.I. and Fuller, M.F., 1996. Microbial amino acid synthesis and utilization in rats: the role of coprophagy. *Br. J. Nutr.* 76, 701-709.

Torrallardona, D., Harris, C.I. and Fuller, M.F, 2003a. Pigs' gastrointestinal microflora provide them with essential amino acids. *J. Nutr.* 133, 1127–1131.

Torrallardona, D., Harris, C.I. and Fuller, M.F., 2003b. Lysine synthesized by the gastrointestinal microflora of pigs is absorbed, mostly in the small intestine. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284, E1177-E1180.

**INCORPORATION OF LYSINE FROM MICROBIAL ORIGIN INTO TISSUE PROTEIN OF
IBERIAN AND LANDRACE × LARGE WHITE PIGLETS**

Table 1. Final body weight (FBW), average daily feed intake (ADFI, g), average daily gain (ADG, g) and proportions of carcass and viscera to empty BW (g/kg empty BW) of Landrace × Large White (Ld × LW) and Iberian piglets slaughtered after consuming the experimental diet (either unlabelled or labelled) for 10 days (n=11 observations per breed)

| | Ld × LW | Iberian | SEM | P-value |
|------------------------|----------------|----------------|------------|----------------|
| FBW | 15.4 | 14.8 | 0.54 | NS |
| ADFI | 620 | 644 | 30.0 | NS |
| ADG | 276 | 283 | 28.1 | NS |
| Carcass | 789.3 | 764.3 | 4.86 | <0.01 |
| Total viscera | 159.2 | 178.4 | 3.37 | <0.001 |
| GIT¹ | 88.0 | 98.3 | 1.81 | <0.001 |
| Liver | 32.4 | 39.9 | 1.18 | <0.001 |

¹ Comprises the stomach, small intestine and large intestine

**INCORPORATION OF LYSINE FROM MICROBIAL ORIGIN INTO TISSUE PROTEIN OF
IBERIAN AND LANDRACE × LARGE WHITE PIGLETS**

Table 2. ¹⁵N-lysine enrichment (Atom percent excess, %) in carcass, liver and bacterial pellets from the ileum of Large White (Ld × LW) and Iberian piglets fed a ¹⁵N-labelled diet for 10 days (n= 8 observations per breed and sampling site (SS))^{1,2}

| SS | Genotype (G) | | P-value | | |
|--------------------------|----------------------|---------------------|---------|-------|-------|
| | Ld × LW | Iberian | SS | G | SS×G |
| Carcass | 0.0111 ^{bc} | 0.0099 ^c | <0.001 | <0.05 | <0.01 |
| Liver | 0.0273 ^a | 0.0167 ^b | | | |
| Bacterial pellets | 0.0134 ^{bc} | 0.0155 ^b | | | |

¹P-values corresponding to a 3 (SS) × 2 (G) factorial analysis. SS × G interaction was significant and data were re-analyzed by one way-ANOVA. Means with different superscript letter differ significantly (P<0.05).

²S.E.M. = 0.00198

7. Discusión General

7.1 Ensayos realizados con lechones Ibéricos en lactación (Publicaciones 1 y 2)

Producción de leche y su composición

Se han realizado muy pocos experimentos que hayan abordado el estudio de la nutrición del lechón en lactancia natural, durante la cual la camada permaneciera todo el periodo de lactancia con su madre y, por lo tanto, en estrecha semejanza a lo que ocurre en condiciones reales, aunque sin recibir suplementación alimenticia alguna que pudiera complementar el aporte de nutrientes de origen lácteo (Noblet and Etienne, 1986 and 1987; Jentsch *et al.*, 1995). En consecuencia, para la presente discusión se da preferencia a aquellos experimentos llevados a cabo bajo condiciones de manejo similares. El ensayo realizado nos ha permitido establecer conclusiones sobre el balance de nutrientes en el lechón Ibérico sometido a este sistema de manejo.

Aunque nuestro ensayo se llevó a cabo en dos réplicas prácticamente consecutivas, en las que la temperatura ambiental fue sensiblemente distinta, la posible existencia de otros factores externos no controlados inherentes a la propia réplica de ensayo impide atribuir estrictamente a dicho cambio térmico las variaciones observadas –por otra parte, muy limitadas– en la ingesta y utilización biológica de los nutrientes. En cualquier caso, no se ha identificado ningún efecto (potencialmente imputable a la distinta temperatura ambiental de las dos réplicas) ni en la producción de leche –y, por tanto, en su ingesta– ni en

su composición, lo cual concuerda con las observaciones realizadas por Renaudeau *et al.* (2003) en las que el aumento de la temperatura ambiental desde 20 a 28°C no alteraba la producción de leche ni su composición, en cerdas multíparas Large White x Landrace que disponían de libre acceso al alimento. De todos modos, nuestro experimento no fue diseñado con el objetivo de comprobar diferencias potenciales de producción y composición de la leche de cerdas Ibéricas sometidas a diferentes temperaturas, factor circunstancial. Al no existir diferencias significativas entre las dos réplicas efectuadas, los datos se unificaron y trataron como una sola réplica de ensayo. Cuando, excepcionalmente, tales diferencias aparecen se describen y discuten.

Con respecto a la ingesta de calostro el primer día de vida del lechón, nuestra estimación de 432 ± 12 g por lechón se corresponde con un flujo de $18,0 \pm 0,5$ g/h, muy similar a $18,0 \pm 1,1$ g/h citado por Spinka *et al.* (1997) en cerdas Swedish Landrace x Yorkshire. Nuestra estimación equivale a una ingesta de 308 g/kg PV de lechón, valor 28 y 19% superior, respectivamente, a los 240 y 260 g/kg PV observados por Le Dividich y Noblet (1981) y Milon *et al.* (1983). A pesar de que el procedimiento seguido para obtener esta estimación puede comportar alguna desviación, el error potencial se consideró pequeño, ya que afecta a menos de una quinta parte de la lactancia total.

La producción de leche y su composición son factores clave que determinan el crecimiento del lechón. La producción de leche está relacionada con el tamaño de la camada y el peso del lechón. El número de partos y la

etapa de lactancia son factores adicionales que también influyen (ARC, 1981). No existen datos en la literatura científica concernientes a la producción y composición de la leche de la cerda Ibérica. Tan sólo podemos encontrar ecuaciones de predicción obtenidas en otras razas porcinas, cuya aplicación permite estimar la producción de leche, así como el flujo de nutrientes y energía. Por ejemplo, Noblet y Etienne (1989) relacionaron la ganancia diaria de peso del lechón con la producción de leche y el flujo de nitrógeno y energía bruta para un periodo de lactación comprendido entre los 20 y 25 días. En nuestro caso, para una duración equivalente del periodo de lactancia, la ganancia media diaria sería de 185 g por lechón, que aplicada a las ecuaciones de regresión de Noblet y Etienne (1989), estimaría la ingesta de leche en 698 g/lechón y día; en 5,49 g la ingestión diaria de nitrógeno y en 3,466 KJ la de energía. Las cifras reales correspondientes al presente experimento son 841 g, 6,74 g y 3,959 KJ, respectivamente. El NRC (National Research Council) utiliza una modificación de la ecuación descrita por Noblet y Etienne (1989), cuya aplicación subestima la producción de leche obtenida en nuestros ensayos en las cerdas Ibéricas en un 12%. Sin embargo, el ARC (Agricultural Research Council) (1981), basándose en datos recopilados por Elsley (1971) de producciones de leche descritas en la bibliografía en cerdas convencionales con camadas de ocho lechones como media, adopta una producción media de 6,25 Kg/d para un periodo de lactación de 8 semanas, que equivaldría a 6,57 Kg/d para un periodo de lactación de 5 semanas, cuyo valor está muy por encima del observado en nuestro experimento. Sin embargo, a partir de esta última estimación se obtiene una ingesta de 821 g de leche por lechón

comparable con el valor de 863 g/d de nuestras observaciones que corresponden a cerdas que amamantan camadas de sólo seis lechones. Con ello se ha querido subrayar, como más adelante se indica, que la ingesta de leche (y la de sus nutrientes) no es factor limitante del crecimiento del lechón Ibérico.

Aunque son numerosos los factores que afectan a la producción y composición de la leche de la cerda (Darragh and Moughan, 1998), existen datos que demuestran que el suministro de nutrientes de la leche a los lechones, no depende estrictamente de la composición en nutrientes de la dieta de la madre debido a la movilización de las reservas corporales (Klaver *et al.*, 1981; Clowes *et al.*, 1998; Pluske *et al.*, 1998). Esta capacidad de movilización de reservas en soporte de la lactación disminuye a medida que se agotan los depósitos de grasa (Noblet and Etienne, 1986). En nuestro estudio, el régimen de alimentación al que fueron sometidas las madres durante la lactación generó una pérdida de peso diaria de 400 a 500 g/d que no afectó a la producción de la leche. Se han descrito diferencias significativas en la concentración de nutrientes de la leche atribuidas a la raza por Fahmy (1972), Zou *et al.* (1992) y Alston-Mills *et al.* (2000), entre otros. El contenido en proteína y energía en la leche de cerda Ibérica se encuentra dentro del rango de valores descritos en la literatura para razas de cerdas convencionales. (Fahmy, 1972; Klobasa *et al.*, 1987; Atwood and Hartman, 1992; Csapó *et al.*, 1996). Nuestros resultados son muy próximos y siguen un patrón similar a medida que la lactación avanza a los observados por Klobasa *et al.* (1987) en

muestras de leche procedentes de cerdas German Landrace. Sin embargo, en comparación con las observaciones de Braude et al. (1947) en cerdas Large White, nuestros datos muestran concentraciones considerablemente menores de sólidos totales, grasa y proteína y un mayor contenido de lactosa. Además, según Liotta et al (2007), la leche de cerdas Nero Siciliano, un genotipo porcino Mediterráneo como el Ibérico, tiene mayor contenido en grasa y energía que la de cerda Ibérica. Por su parte, la concentración de determinados aminoácidos (Lys, Phe, His, Glu, Ser, Tyr, Gly and Cys) en la leche de cerda Ibérica se encuentra dentro de los rangos descritos para leche de cerdas de genotipo magro (Elliot et al., 1971; Duee and Jung, 1973; Cranwell and Moughan, 1989; Dourmad et al., 1991; King et al., 1993; Davis et al., 1994; Csapó et al., 1996; King, 1998). La concentración de los aminoácidos de cadena ramificada se encuentra un 12-16% por debajo de los valores de la bibliografía, mientras que Arg y Met están un 30% por encima. En concordancia con los datos publicados por Elliot et al. (1971) and Csapó et al. (1996) en muestras procedentes de cerdas de razas convencionales tomadas después de la etapa de calostro, en nuestros ensayos, la concentración de todos los aminoácidos esenciales y la mayoría de los no esenciales, expresada en g/kg de proteína verdadera, permaneció inalterada durante toda la lactancia, lo que sugiere una relativa constancia en el patrón de las fracciones proteicas en la leche de cerda Ibérica

Composición corporal de los lechones

Los lechones Ibéricos al nacimiento muestran un mayor contenido en proteína, grasa y cenizas, y consecuentemente, mayor concentración de

sólidos totales y mayor densidad energética que los lechones de razas convencionales (Elliot y Lodge, 1977; Noblet y Etienne, 1986; Jentsch *et al.*, 1995). Cabe destacar que el contenido de grasa duplica los valores descritos para razas magras, lo que podría ser un factor clave para la supervivencia de los lechones Ibéricos recién nacidos, particularmente cuando el parto se lleva a cabo al aire libre, lo que podría comportar temperaturas ambientales muy inferiores a la de termoneutralidad. Charneca *et al.* (2010) han observado mayores porcentajes de materia seca, proteína bruta y grasa en la canal de lechones recién nacidos procedentes de cerdas de raza Alentejana que en los de cerdas Large White x Landrace. En comparación con los lechones de raza Large White (Aumaitre and Duée, 1974), el lechón ibérico al nacimiento contiene mayores cantidades de His, Met, Tyr, Lys y Arg (aprox. 48, 39, 29, 24 y 24%, respectivamente) y menor concentración de Asp, Glu y Pro (aprox. 21, 18 and 15%, respectivamente).

En cuanto a las comparaciones de la composición corporal al destete hay que ser cauteloso, ya que las diferencias en la duración del periodo de lactancia de las distintas publicaciones, pueden inducir a interpretaciones erróneas. Noblet y Etienne (1987) observaron que al destete la composición corporal del lechón se veía afectada en gran medida por la tasa de crecimiento, de modo que a mayor ganancia de peso media diaria, la composición corporal del lechón presenta menor contenido en proteína y cenizas y mayor concentración de grasa, sólidos totales y energía. Los valores obtenidos para la composición química de los lechones Ibéricos al destete apoyan las

observaciones hechas por estos autores. Con respecto a la composición de aminoácidos de la proteína corporal, el lechón ibérico al destete contiene mayores cantidades de His, Met, Tyr, Lys y Arg, (aprox. 47, 23, 19,18 y 15%, respectivamente) y menor concentración de Asp Glu, y Pro (aprox. 21, 18 y 15%, respectivamente) que los lechones Large White del estudio realizado por Aumaitre and Duée (1974).

En nuestros ensayos, la ganancia media diaria medida en los sucesivos subperiodos de lactancia disminuyó de 202 a 130 g y la tasa de conversión de la leche (g leche/ g ganancia) aumentó de 3,02 (1/0,331) a 7,04 (1/0,142) a medida que avanzaba la lactación. Tal patrón de rendimiento se debe, al menos en parte, a un aumento constante y notable de los requerimientos de nutrientes y energía para atender a los procesos de mantenimiento del lechón a medida que este aumenta de peso, en tanto que el suministro de nutrientes permanece, como hemos indicado anteriormente, sensiblemente constante. Nuestros datos indican que los lechones Ibéricos requieren más leche por gramo de ganancia corporal que los descritos en el estudio de Pluske *et al.* (1998) (de 3,8 a 4,2, dependiendo de la fase de la lactancia y del nivel de alimentación de la cerda). En el estudio de Noblet y Etienne (1986), las tasas de conversión de la leche y de energía de la leche en ganancia de peso del lechón, calculadas para un periodo de lactación de 21 días, se sitúan en una media de 3,82 g leche/g de ganancia y 18,3 KJ/g de ganancia. Estos datos son más favorables que los observados en el presente experimento (5,15g (1/0,195) y 23,9KJ (1/41,9)) para un periodo de lactación de 34 días. Sin

embargo, cuando la comparación se realiza para 21 días de lactación, el presente experimento refleja mayores eficiencias de utilización de los nutrientes de la leche (4,48g (1/0.223)) y menores costes energéticos (21.0KJ (1/47.6)), respectivamente que los valores obtenidos a 34 días. A pesar de ello, estos índices siguen siendo más desfavorables que los del estudio de Noblet y Etienne (1986).

Balance de nutrientes y energía de los lechones

Existen en la literatura científica muy pocos datos sobre la eficiencia de utilización de los nutrientes de la leche para el mantenimiento y la producción. Los pocos experimentos llevados a cabo con anterioridad en lechones amamantados por su madre, en estrecha semejanza a lo que ocurre en condiciones prácticas (Noblet and Etienne, 1986 and 1987; Jentsch et al., 1995), revelan tasas de deposición de proteína comparativamente superiores a las que hemos observado en el lechón Ibérico. La media de ganancia de peso vivo vacío en el lechón Ibérico fue sólo de 160 g/d, siendo la deposición media diaria de nutrientes y energía entre el nacimiento y el destete tras 34 días de lactación de 27,4 g de proteína (4,38 g de N), 24,2 g de grasa y 1.615 KJ de energía. Estas tasas de deposición son ligeramente menores que las descritas por Noblet y Etienne (1987) en lechones Large White destetados con tan sólo 22 días de edad (4,78 g N; 28,7 g grasa), lo cual concuerda con una tasa de crecimiento menor en el lechón Ibérico para un periodo de lactancia similar (185 g/d en el lechón Ibérico frente a 195 g/d, descritos por Noblet y Etienne (1987)). Sólo indicar que si la comparación se establece entre datos

expresados por unidad de peso metabólico (utilizando el peso medio del lechón correspondiente al periodo de lactancia), las diferencias en deposición de nutrientes se amplían considerablemente. Por el contrario, nuestras estimaciones son mayores que los valores obtenidos por Jentsch *et al.* (1995) en lechones de cerdas German Landrace destetados a los 26 días de edad. Sin embargo, los resultados deben analizarse con cuidado debido a la diferencia en la longitud del período de lactancia de los distintos estudios.

La eficiencia total de utilización de la proteína de la leche (g de proteína depositada / g de proteína ingerida) de cerda Ibérica es inferior a las observadas en lechones lactantes de genotipos magros. Por ejemplo, Noblet y Etienne (1987) obtuvieron una eficiencia total de utilización de la proteína de 0,88. El valor obtenido por Jentsch *et al.* (1995) fue de 0,74. Los valores obtenidos en nuestros ensayos fueron de 0,619 y 0,571 en las réplicas de ensayo 1 y 2, respectivamente. Naturalmente, estas bajas eficiencias también se observan cuando se las calcula en función de la ingesta de proteína verdadera. Todo ello sugiere una capacidad de deposición proteica comparativamente inferior en el lechón Ibérico, que limitaría el crecimiento de los tejidos. No existen datos de eficiencia de utilización de aminoácidos en lechones sometidos a lactancia natural. Wu *et al.* (2010) publicaron que en lechones de 14 días de edad criados por sus madres, el 70% de los aminoácidos de la dieta se utiliza para la deposición en proteínas corporales. En nuestro experimento esta cifra es de un 65%.

La mayoría de los aminoácidos esenciales se utilizan para la formación de proteína corporal. El valor de la relación existente entre la concentración de aminoácido en el organismo del lechón y la concentración de dicho aminoácido en la leche de la cerda proporciona una estimación del grado en que dicho aminoácido es limitante para el crecimiento del animal, de modo que cuanto mayor sea dicho valor para un determinado aminoácido, más limitante es y, por lo tanto, se espera que se utilice con mayor eficiencia. En nuestro ensayo, los aminoácidos esenciales que presentaron el valor más elevado para dicha relación fueron His (1,50), Arg (1,41) y Phe (1,16) mientras que Lys, Val, Thr e Ile presentaron una relación próxima a 1, lo que significa que sus concentraciones corporales coinciden con las concentraciones en las que se encuentran en la proteína de la leche. De todos modos, una relación cercana a 1 también puede suponer una limitación. En cuanto a Met y Leu se detectó su exceso en la leche con respecto a su concentración corporal. Estos resultados concuerdan con los de Davis et al. (1993) y Tauson et al. (2003), en cuyos estudios de utilización de aminoácidos en crías de rata y en crías de visón respectivamente, encontraron que Phe e His se encontraban entre los aminoácidos esenciales más limitantes. Sin embargo, los datos de eficiencia de utilización para la deposición proteica (g AA depositado/ g AA en leche ingerido) proporcionan una información más precisa del grado en que el aminoácido esencial sería limitante. El crecimiento de los lechones Ibéricos en lactación estaría limitado, al menos teóricamente, por los aminoácidos esenciales que muestran mayores eficiencias para la deposición de tejido. En el presente experimento His, Arg y Phe mostraron las mayores eficiencias de

incorporación a los tejidos del lechón (de media, $1,019 \pm 0,025$, $0,913 \pm 0,017$ y $0,780 \pm 0,015$, respectivamente). Wu et al. (2004) demostraron que la Arg presente en la leche es notablemente insuficiente para producir el máximo crecimiento en cerdos lactantes de 14 días de edad y que un aumento del suministro de Arg supone una gran mejora de la tasa de crecimiento en los lechones criados por sus madres. Sin embargo, aunque los resultados del presente estudio indican que en la leche de cerda Ibérica la concentración de Arg es un 30% mayor que en la leche de cerdas de razas convencionales o magras (King, 1998) -lo que en principio sugeriría una deficiencia comparativamente menor para este aminoácido-, no hay que olvidar que en el lechón Ibérico destetado, la cantidad de Arg en el organismo es sustancialmente mayor que en los lechones de razas convencionales.

En cuanto a los aminoácidos no esenciales, el análisis de Gly en la leche de cerda ibérica y en la proteína corporal del lechón dio como resultado un factor de 2,75, lo que indica que este aminoácido es el más deficiente en la leche de cerda, tal y como comunicaron anteriormente Wu et al. (2010). Consecuentemente, la Gly muestra la mayor eficiencia de utilización para la deposición de tejido ($1,803 \pm 0,057$), seguida de Ala ($1,375 \pm 0,026$), que también presenta un valor alto para la relación entre su concentración en la proteína corporal y en la leche (2,12).

El examen de valores observados para la eficiencia de utilización de aminoácidos para la deposición en tejidos y de los factores obtenidos cuando

se compara la concentración de aminoácidos presente en la proteína corporal, frente a la existente en la leche, sugiere que los principales aminoácidos limitantes para la deposición de proteína en el organismo del lechón Ibérico lactante son His, Arg, Gly y Ala. En lechones lactantes de razas convencionales, Arg, Gly y Ala se encuentran en cantidades insuficientes para producir una deposición óptima de proteína pero la His no es limitante. Sin embargo, en el lechón Ibérico sí lo es, lo que podría explicar que tenga una tasa de crecimiento comparativamente menor. Además, la alta concentración de His en la proteína corporal del lechón podría acentuar su deficiencia en His. Esto contribuiría a explicar la baja tasa de formación de proteína corporal, la pobre eficiencia de deposición de proteína y la alta eficiencia de utilización de este aminoácido para el crecimiento del tejido, cuando se comparan nuestros resultados con los publicados en lechones de razas convencionales o magras.

Por su parte, la energía bruta de la leche se retuvo en el lechón ibérico con una eficiencia total de 0,400, de nuevo un valor menor que los descritos por Noblet y Etienne (1987) y Jentsch *et al.* (1995) (0,547 y 0,435, respectivamente). La ingesta de energía metabolizable (EM) de la leche necesaria para que el lechón Ibérico retenga 1KJ de energía fue de 1,71 KJ. Esto indica una eficiencia de utilización de la energía metabolizable de la leche de cerda Ibérica (k_g) de 0,584, valor idéntico al obtenido en ensayos anteriores realizados en nuestro departamento con cerdos Ibéricos en fase crecimiento a los que se les alimentó con una cantidad adecuada de proteína ideal (0,582; Nieto *et al.*, 2002). Para el cálculo del contenido en EM de la leche hemos

aceptado, de acuerdo con los resultados publicados por Jentsch *et al.* (1995), que éste es el 97% de su contenido en energía bruta, es decir, que las pérdidas energéticas en heces y orina suponen sólo un 3% de la ingesta de energía. En los experimentos de Jentsch *et al.* (1995) los valores de k_g se sitúan en el rango de 0,70 a 0,72. La tasa de conversión tan baja de energía de la leche en energía corporal retenida podría explicarse, al menos en parte, por el alto coste energético de la deposición de proteína en el lechón Ibérico. En efecto, nuestras estimaciones para las eficiencias parciales de utilización de la EM para la deposición de proteína (k_p) y grasa (k_f) fueron 0,373 y 0,696 respectivamente. Aunque nuestros valores de k_f se acercan a los descritos en la literatura para lechones destetados precozmente, (0,72-0,78; Close y Stanier, 1980; Campbell y Dunkin, 1983; Gädeken *et al.*, 1985), nuestra estimación de k_p está muy por debajo de los valores encontrados en estos estudios (0,74-0,83). En ensayos realizados anteriormente en nuestro departamento con cerdos Ibéricos en distintas fases de crecimiento, también hemos obtenido valores muy bajos para k_p (0,303 y 0,218; Nieto *et al.*, 2002; Barea *et al.*, 2007), lo que corrobora que en esta raza porcina se requiere considerablemente más energía por unidad de proteína depositada, presumiblemente como resultado de un reciclado de proteína comparativamente mayor. De hecho, Rivera-Ferre *et al.* (2005) observaron en cerdos Ibéricos en crecimiento, alimentados con dietas con aporte equilibrado de proteína y energía, que existía una mayor tasa de síntesis proteica de la fracción muscular que en cerdos Landrace, aunque la masa muscular de aquellos era menor, lo que sugiere unas altas tasas de degradación proteica

muscular. Nuestros datos muestran, además, que las necesidades energéticas para el mantenimiento, expresadas en energía metabolizable (ME_m) se establecen en $404 \text{ KJ/Kg}^{0,75}$. Este valor es menor que el de 468 y $451 \text{ KJ/Kg}^{0,75}$ descritos por Jentsch *et al.* (1995) para lechones lactantes y lechones destetados precozmente alimentados con leche de vaca, respectivamente. También es menor que el de $445 \text{ kJ/kg}^{0,75}$ publicado por Campbell y Dunkin (1983) para lechones destetados precozmente, a los que se les suministró una dieta basada en leche desnatada en polvo con aporte de proteína adecuado.

Los resultados obtenidos en el presente ensayo indican que la baja tasa de crecimiento observada en los lechones Ibéricos en lactación en comparación con lechones de razas magras o convencionales no se justifica por una menor ingesta de leche o por un déficit comparativamente más elevado de los nutrientes que proporciona la misma, sino más bien como resultado de su limitada capacidad de deposición proteica y una baja eficiencia en el uso de la proteína y energía de la leche para su incorporación a los tejidos del animal. Teniendo en cuenta los datos presentados de ingesta y eficiencias de utilización de la leche, se recomienda que el periodo de lactación no se prolongue más allá de las 4 semanas.

7.2 Ensayos realizados con cerdos Ibéricos en crecimiento sobre la utilización de la lisina de origen microbiano (publicación 3)

En la literatura científica se ha constatado que en monogástricos como el hombre y el cerdo existe absorción de aminoácidos de origen microbiano y

que ésta tiene lugar en el intestino delgado (Metges et al., 1999; Torrallardona et al. 2003a, 2003b). En monogástricos de otras especies, como la rata y el conejo, también se ha demostrado la incorporación de aminoácidos sintetizados por la microbiota a los tejidos del hospedador, pero ésta se ha relacionado con la ingestión de material fecal (Torrallardona *et al.*, 1996) o de cecotrofos (Belenguer *et al.*, 2005). En cualquier caso, la importancia que este proceso puede tener para proveer al animal de cantidades significativas de aminoácidos esenciales para el crecimiento y el mantenimiento de la homeostasis proteica no es bien conocida (Metges y Petzke, 2005).

La lisina, como aminoácido esencial, no es sintetizado por los tejidos del cerdo, y junto con la treonina, no sufre transaminación en los tejidos de mamíferos (Bender, 1985). Basándonos en trabajos previos en los que observamos que la tasa de crecimiento de cerdas Ibéricas se veía comparativamente menos afectada por una deficiencia similar en lisina que la de cerdas de genotipo magro (Rivera-Ferre et al, 2006), junto con el mayor tamaño relativo de los tejidos gastrointestinales en la raza Ibérica (Rivera-Ferre et al, 2005), se llevó a cabo un estudio para comprobar si los cerdos Ibéricos podrían beneficiarse de una mayor absorción de lisina de origen microbiano, es decir, de aminoácidos sintetizados por la microflora que alberga en su intestino. Esta hipótesis no ha podido demostrarse. Con este propósito, utilizamos en este ensayo lechones Ibéricos y lechones Landrace x Large White, destetados. El tiempo de exposición a la fuente de ^{15}N inorgánica (sulfato amónico), se fijó en diez días al comprobar en un estudio preliminar que este periodo era

suficiente para alcanzar niveles de lisina marcada detectables en los tejidos del lechón (Ruiz Guerrero, 2008). La abundancia natural de ^{15}N -lisina encontrada en los tejidos de ambos genotipos fue ligera pero significativamente distinta, por lo que para cada genotipo se utilizó su valor correspondiente de ^{15}N -lisina basal para hallar de la forma más exacta posible el enriquecimiento en dicho isótopo en los tejidos de los animales que consumieron la dieta marcada. Además, no se observaron diferencias significativas en cuanto al enriquecimiento en ^{15}N -lisina en los tejidos de los animales alojados en jaulas metabólicas o en parques, lo que indica que los animales no practicaron la coprofagia durante el experimento, y por lo tanto, que la lisina marcada detectada en sus tejidos procedería, en todos los casos, de su absorción intestinal a partir de los aminoácidos sintetizados por la microbiota.

Nuestros resultados muestran que el enriquecimiento en ^{15}N -lisina de la canal fue similar entre ambos genotipos, aunque ambos valores fueron significativamente menores que el enriquecimiento en ^{15}N -lisina observado en el hígado. La gran diferencia en enriquecimiento entre la canal y el hígado se basa en las diferentes tasas de renovación de las proteínas de estos compartimentos corporales. El hígado tiene una tasa de síntesis proteica diaria que alcanza aproximadamente el 45% del *pool* proteico total de ese órgano, mientras que en el músculo esta es sólo de alrededor del 7% (Rivera-Ferre et al., 2005). Por lo tanto, en nuestros ensayos, tras 10 días de consumo de la dieta marcada con una fuente inorgánica de ^{15}N , el hígado probablemente alcanzó un equilibrio isotópico, de modo que se obtuvieron los valores máximos

de enriquecimiento en ^{15}N -lisina alcanzables en las condiciones experimentales. Sin embargo este equilibrio no se llegó a alcanzar en el músculo (canal), por su menor velocidad de renovación. Por esta razón, es el enriquecimiento en ^{15}N -lisina del hígado es el que puede darnos una estimación de la incorporación de lisina de origen microbiano en nuestras condiciones experimentales. Por otra parte, el enriquecimiento en ^{15}N -lisina de la fracción bacteriana aislada del último tercio del intestino delgado es muy similar al enriquecimiento obtenido en los tejidos, y muy inferior al obtenido en el hígado en ambos genotipos porcinos. Estos resultados parecen indicar que en el momento del sacrificio, las bacterias aisladas del contenido ileal utilizaban preferentemente una fuente de nitrógeno endógena en lugar del nitrógeno de la dieta para sintetizar proteína bacteriana. Esto podría deberse a que los animales permanecieron sin acceso a la dieta desde el final de la comida del día anterior hasta el momento del sacrificio, y a la continua renovación de la población microbiana alojada en el íleon. Por lo tanto, el muestreo del precursor bacteriano utilizado para calcular la tasa de incorporación de aminoácidos microbianos a los tejidos del animal no ha sido idóneo, en contraste con lo obtenido por otros autores con una metodología similar a la utilizada en el presente estudio (Torrallardona et al., 2003a). Independientemente de este hecho, y asumiendo un enriquecimiento similar en las bacterias intestinales de ambos genotipos porcinos, ya que tuvieron ingestas similares de la fuente inorgánica de ^{15}N , podemos sugerir que la incorporación de lisina marcada fue superior en los cerdos de capa blanca, basándonos en un enriquecimiento sustancialmente mayor del hígado en los lechones Ld \times LW que en los

Ibéricos. En principio, esto contradice nuestra hipótesis inicial, basada en una menor sensibilidad del cerdo Ibérico a la deficiencia de lisina y en el mayor peso de sus tejidos gastrointestinales (estómago, intestino grueso e intestino delgado), ya que en el caso de que en los lechones Ibéricos se hubiera favorecido una mayor absorción de lisina de origen microbiano, su enriquecimiento en el hígado debería haber sido superior.

Los resultados obtenidos en las presentes condiciones experimentales no señalan a una mayor absorción de lisina de origen microbiano como causante de la menor sensibilidad al déficit en la dieta de este aminoácido en el cerdo Ibérico comparado con otros genotipos porcinos. Podría ocurrir que debido a que la dieta experimental presentaba un déficit de proteína para los lechones, más acusado en el caso de los Ld x LW, la absorción de lisina microbiana y su incorporación a los tejidos de estos lechones se hayan visto acentuadas, ya que sus requerimientos proteicos son mayores. Otra causa de la menor sensibilidad potencial del cerdo Ibérico al déficit de lisina en la dieta podría ser una menor proporción de lisina en su proteína corporal, lo que implicaría necesidades de lisina comparativamente menores para depositar nueva proteína, aunque los estudios realizados por nuestro grupo en esta línea sugieren que esta hipótesis no es válida. En cualquier caso, es conveniente continuar investigando en esta línea de trabajo para poder aclarar este aspecto del metabolismo de aminoácidos en esta raza porcina autóctona.

8. Resumen y Conclusiones

Bajo condiciones similares de explotación, el crecimiento del lechón Ibérico durante el periodo de lactancia es menor que el observado en genotipos porcinos convencionales o magros. Cabría atribuir esta menor tasa de crecimiento a una insuficiente transferencia de nutrientes de la madre al lechón, bien porque la producción de leche por parte de la cerda Ibérica fuese excesivamente limitada o inadecuada su composición nutricional, bien debido a una baja eficiencia de utilización de los nutrientes procedentes de la leche por parte del lechón o a una limitación del potencial de éste para deponer proteína. La actividad científica desarrollada durante la presente Tesis Doctoral ha pretendido detectar las causas que impiden que el lechón Ibérico alcance el destete con un peso similar a los lechones de genotipos convencionales. En último término, con estos trabajos pretendemos ampliar la base científica que nos permita optimizar la alimentación y manejo de estos animales durante su primera fase de cría.

Para ello se seleccionaron 16 cerdas Ibéricas de la estirpe Silvela, en un experimento realizado en dos réplicas consecutivas. En cada réplica, se seleccionaron por una parte, cuatro cerdas para llevar a cabo las medidas de producción de leche, crecimiento de la camada y de balance de nutrientes y energía en los lechones y, por otra parte, cuatro cerdas adicionales, de las que se obtuvieron muestras de leche. Se asumió que la composición obtenida en los análisis de las muestras de leche era similar a la ingerida por los cerditos

utilizados en las medidas de crecimiento y balance. El primer día tras el parto, previo sacrificio inmediato al mismo de un lechón por camada, éstas se igualaron a seis lechones. La producción de leche se determinó semanalmente por el método de la doble pesada durante un periodo de lactación de 34 días. Los cerdos se pesaron individualmente al nacimiento y semanalmente a partir del quinto día del periodo de lactación.

Por su parte, las muestras de leche se recolectaron los días 5, 12, 19, 26 y 34 tras el parto. Para determinar la retención de nutrientes y energía se utilizó el método de los sacrificios comparados, por lo que se sacrificó de cada camada, además del lechón al nacimiento, cuatro lechones en la mañana en que alcanzaron los 35 días de edad.

Analizados estadísticamente los datos experimentales, no se observaron diferencias significativas entre ambas réplicas para la mayoría de los parámetros estudiados. La producción total de leche fue de $5,175 \pm 0,157$ Kg/d. La composición química media de la leche (g/Kg) fue de 179 ± 4 , para la materia seca; $53,4 \pm 1,0$, para la proteína bruta; $58,5 \pm 3,8$, para la grasa; $10,4 \pm 0,3$, para las cenizas totales, y $56,9 \pm 2,3$ para la lactosa. El contenido proteico de la leche de cerda Ibérica fue similar al descrito para razas convencionales. Sin embargo, las concentraciones de Thr, Pro, Asp, Ala y los aminoácidos de cadena ramificada, resultaron ligeramente inferiores al rango de valores descritos en la literatura, mientras que arginina y metionina fueron sensiblemente superiores. La concentración de todos los aminoácidos

esenciales y la mayoría de los no esenciales, expresada en g/Kg de proteína verdadera, permaneció inalterada durante toda la lactancia, lo que sugiere una relativa constancia en el patrón de las fracciones proteicas en la leche de cerda Ibérica. La energía bruta de la leche fue de $4,626 \pm 0,145$ MJ/Kg. La ingesta de leche por lechón tendió a ser mayor en la segunda réplica (832 vs. 893 g/d, respectivamente; $P = 0.066$).

Los lechones Ibéricos al nacimiento muestran mayor contenido en proteína, grasa y cenizas, y consecuentemente, mayor concentración de sólidos totales y mayor densidad energética que los lechones de razas convencionales. Además su proteína media corporal contiene mayores cantidades de His, Met, Tyr, Lys y Arg (aprox. 48, 39, 29, 24 y 24%, respectivamente) y menor concentración de Asp, Glu y Pro (aprox. 21, 18 y 15%, respectivamente).

La composición media de la ganancia (tejido depositado) por lechón fue de $172,1 \pm 1,3$, $151,5 \pm 3,5$, $41,4 \pm 0,6$ y 635 ± 3 g/Kg para proteína, grasa, cenizas y agua, respectivamente, y de $10,127 \pm 0,126$ MJ/Kg de energía bruta. Durante los 34 días de lactación, la ganancia de peso media diaria de los lechones Ibéricos, medida en los sucesivos subperiodos semanales de lactancia, disminuyó de 202 a 130 g, obteniéndose una tasa promedio de crecimiento de 168 ± 3 g/d. La tasa de conversión de la leche (g leche/ g ganancia) aumentó de 3,02 (1/0,331) a 7,04 (1/0,142) a medida que avanzaba la lactación. Las tasas medias de conversión de la leche y de energía de la

leche en ganancia de peso del lechón, fueron de 5,15 g leche/g de ganancia (1/0,195) y 23,9 KJ/g de ganancia (1/41,9). La eficiencia total de utilización de la proteína de la leche (g de proteína depositada / g de proteína ingerida) fue inferior a las observadas en lechones lactantes de genotipos magros, obteniéndose valores significativamente menores en la segunda réplica de ensayo (0,619 vs. 0,571; P = 0,016). La deposición media diaria de nutrientes y energía entre el nacimiento y el destete, practicado a los 35 días de edad, fue de $27,4 \pm 0,5$ g de proteína, $24,2 \pm 0,8$ g de grasa y 1.615 ± 40 KJ de energía. La proteína corporal de los lechones al destete y la proteína depositada durante el periodo de lactación mostraron un perfil aminoacídico muy parecido. Entre los aminoácidos esenciales, His y Arg muestran los valores mayores de eficiencia de incorporación a los tejidos del lechón ($1,019 \pm 0,025$ y $0,913 \pm 0,017$, respectivamente) y también el valor mayor de la relación entre la concentración de aminoácido en el organismo del lechón y la concentración de dicho aminoácido en la leche de la cerda (1,50 y 1,41, respectivamente). Entre los aminoácidos no esenciales, Gly y Ala presentaron, las mayores eficiencias de utilización para la deposición de tejido ($1,803 \pm 0,057$ y $1,375 \pm 0,026$, respectivamente), así como la mayor relación entre concentración de aminoácido corporal y concentración de aminoácido en la leche (2,75 y 2,12, respectivamente).

Los requerimientos energéticos de los lechones para el mantenimiento expresados en energía metabolizable (MEm) fueron de 404 KJ/Kg^{0,75}. La energía metabolizable (EM), se usó para el crecimiento con una eficiencia neta

de 0,584. Las estimaciones para las eficiencias parciales de utilización de la EM para la deposición de proteína (kp) y grasa (kf) fueron 0,373 y 0,696 respectivamente. Estas bajas eficiencias podrían explicar, la tasa de conversión tan baja de energía de la leche en energía corporal retenida. Estos resultados sugieren que la tasa reducida de crecimiento de los lechones Ibéricos lactantes en comparación con aquellos de genotipos convencionales o magros se podría explicar fundamentalmente por una baja eficiencia de utilización de los nutrientes de la leche de la cerda y no por un déficit en el suministro de los mismos. No obstante, el aporte insuficiente de ciertos aminoácidos pudiera adicionalmente limitar la deposición de proteína en el organismo del animal.

Por otra parte, estudios previos de nuestro grupo de investigación muestran menor sensibilidad del cerdo Ibérico al déficit de lisina en la dieta, en comparación con los genotipos porcinos convencionales. Dado que la absorción de aminoácidos de origen microbiano se ha constatado que tiene lugar en el intestino delgado del cerdo y que, además, el cerdo Ibérico presenta mayor tamaño relativo del tracto gastrointestinal, uno de los trabajos realizados en el ámbito de la presente tesis Doctoral pretende comprobar si el cerdo Ibérico pudiera beneficiarse de una absorción más eficiente de lisina de origen microbiano, es decir, del aminoácido sintetizado por la microbiota que alberga en su intestino. Con el propósito de comprobar dicha hipótesis, se llevó a cabo un experimento en el que se utilizaron 22 lechones machos castrados, de los cuales, la mitad eran Ibéricos puros (estirpe Silvela, 48 ± 2 d de edad) y el resto de un genotipo mejorado (Landrace x Large White, 45 ± 2 d de edad). De ellos,

ocho lechones de cada raza recibieron una dieta a la que se le añadió sulfato de amonio marcado con ^{15}N y el resto de animales recibió la misma dieta sin marcar. Se determinó en sus tejidos la abundancia natural en ^{15}N -Lys. Con el fin de evaluar la contribución de la coprofagia a la incorporación de aminoácidos de origen microbiano, 4 cerdos de cada raza se alojaron en jaulas metabólicas. Los cerdos consumieron la dieta marcada durante diez días antes de ser sacrificados. Tras el sacrificio, se anotó el peso de las vísceras y la canal y se tomaron muestras del contenido gastrointestinal. Las muestras de canal, hígado y pellets bacterianos aislados del último tercio del intestino delgado se hidrolizaron y purificaron mediante resinas de intercambio iónico y los aminoácidos eluidos se analizaron en un cromatógrafo de gases unido por una interfase a una unidad de combustión en un espectrómetro de masas, que proporciona el porcentaje de ^{15}N con respecto al N total de la lisina de las muestras. Como el isótopo ^{15}N se encuentra en la naturaleza con una abundancia natural de aproximadamente un 0,67%, también se determinó la abundancia de ^{15}N -Lys en tres lechones de cada raza que consumieron la dieta no marcada para, de esta forma, poder calcular con precisión los enriquecimientos en dicho isótopo en las muestras marcadas.

No se observaron diferencias significativas en cuanto al enriquecimiento en ^{15}N -Lys en los tejidos de los animales alojados en jaulas metabólicas o en parques, lo que indica que los animales no practicaron la coprofagia durante el experimento, y por lo tanto, que la lisina marcada detectada en sus tejidos procedería, en ambos casos, de su absorción intestinal a partir de los

aminoácidos sintetizados por la microbiota. El enriquecimiento de ^{15}N -Lys en el hígado fue considerablemente mayor en los lechones de genotipo mejorado que en los lechones Ibéricos ($0,0273 \pm 0,0013$ vs. $0,0167 \pm 0,0013$ APE, $P < 0,05$), lo que, en contra de nuestras expectativas, sugiere una mayor incorporación de lisina de origen microbiano a los tejidos de los lechones Landrace \times Large White. Es probable que el déficit proteico de la dieta haya acentuado la absorción de lisina de origen microbiano en los lechones de raza convencional, ya que sus requerimientos proteicos son mayores. No obstante, los resultados obtenidos no indican que la menor sensibilidad del cerdo Ibérico al déficit de lisina se deba a una mayor absorción de aminoácidos de origen bacteriano.

Los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis Doctoral nos permiten establecer las siguientes CONCLUSIONES:

- 1ª. Aunque la producción de leche de la cerda ibérica es algo menor que la encontrada en la literatura para genotipos magros, la ingesta de leche por lechón es similar a la de los lechones de razas convencionales, ya que en el cerdo Ibérico, el tamaño de camada es menor. Por lo tanto, la ingesta de leche no es factor limitante del crecimiento del lechón Ibérico.
- 2ª. El contenido en proteína y energía en la leche de cerda Ibérica se encuentra dentro del rango de valores descritos en la literatura para cerdas de razas convencionales., así como la concentración de determinados

aminoácidos (Lys, Phe, His, Glu, Ser, Tyr, Gly and Cys), exceptuando la Thr, Pro, Asp, Ala y los aminoácidos de cadena ramificada, cuyos valores se encuentran por debajo de los indicados en la bibliografía, mientras que los correspondientes a Arg y Met son sustancialmente superiores.

- 3ª. Los lechones Ibéricos requieren más leche por gramo de ganancia corporal, ya que las tasas de eficiencia de utilización de los nutrientes de la leche son menores que en los genotipos mejorados. La eficiencia total de utilización de la proteína de la leche de cerda Ibérica es inferior a las observadas en lechones lactantes de genotipos magros, lo que sugiere una capacidad de deposición proteica comparativamente inferior en el lechón Ibérico, que limitaría el crecimiento de los tejidos, siendo His, Arg, Gly y Ala los aminoácidos más limitantes.
- 4ª. En comparación con lechones de tipo convencional, la eficiencia de retención de la energía de la leche es inferior en el lechón Ibérico. Esta eficiencia tan reducida de conversión energética podría explicarse, al menos en parte, por el alto coste energético de la deposición de proteína en el lechón Ibérico.
- 5ª. La baja tasa de crecimiento observada en el lechón Ibérico lactante, en comparación con lechones de razas magras o convencionales, no se justifica por una menor ingesta de leche o por un déficit comparativamente más elevado de los nutrientes que proporciona la misma, sino que es el

resultado de su limitada capacidad de deposición proteica y de una baja eficiencia en el uso de la proteína y energía de la leche para su incorporación a los tejidos del animal.

- 6ª. Los resultados de enriquecimiento en ^{15}N -Lys obtenidos en las bacterias del intestino nos impiden cuantificar en los animales experimentales la incorporación a sus tejidos de lisina originada en la microbiota intestinal. No obstante, asumiendo un enriquecimiento similar del precursor bacteriano en ambos genotipos porcinos, ya que ambos tuvieron ingestas similares de una dieta con una fuente inorgánica de ^{15}N , y basándonos en el alto enriquecimiento de ^{15}N -Lys del hígado, cabe afirmar que la incorporación de ^{15}N -Lys fue comparativamente mayor en los lechones Landrace \times Large White.

9. Summary and conclusions

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Under similar commercial conditions growth rate of Iberian (IB) suckling piglets is lower than those observed for conventional or lean genotypes. It might be that the low growth rates observed in the Iberian suckling piglet are due to shortage in the provision of milk or milk nutrients from the dam to the litter. However, the hypothesis that the IB piglet would attain its maximal capacity for body gain at a rather low level, due to limitations in metabolic utilization of nutrients or a limited protein accretion capacity, cannot be ignored. Within a programme aiming at improving litter growth before weaning, the present doctoral thesis was made to unravel the main factors responsible for the slower growth rate observed in the IB suckling piglet when compared to piglets of conventional genotypes. As an ultimate goal, it is intended to widen the scientific basis to optimize feeding and nutritional management of these animals during their first stage of growth.

The experiment was performed with 16 Iberian sows of the Silvela strain, in two consecutive trials. Within each trial, four sows were selected for evaluation of milk production, litter growth and nutrient balance measurements, and the other four, for milk sampling. It was assumed that the composition observed in the analyses of milk samples was similar to that of the milk ingested

by the suckling piglets. One piglet was slaughtered immediately after farrowing and litter size was then equalized to six piglets on the day after farrowing by cross-fostering. Daily milk yield was determined weekly by the weigh-suckle-weigh technique over a 34-d lactation. Piglets were weighed individually at birth and weekly from d 5 of lactation.

Milk samples were collected on days 5, 12, 19, 26 and 34 postpartum. The comparative slaughter procedure was used to determine nutrient and energy retention between birth and weaning. Within each litter, one piglet at birth and four out of the six lactating piglets were slaughtered on the morning of d 35 of life.

No significant differences between the two trials were observed for most of the parameters studied. Total milk yield was on average 5.175 ± 0.157 kg/d. The average chemical composition of sow milk was 179 ± 4 , 53.4 ± 1.0 , 58.5 ± 3.8 , 10.4 ± 0.3 and 56.9 ± 2.3 for dry matter, CP, fat, ash and lactose, respectively. The protein content of the IB sow milk was similar to that reported for conventional breeds. However, branched-chain AA, Thr, Pro, Asp and Ala were in concentrations slightly below the range of literature values, meanwhile Arg and Met were substantially above it. The EEA and NEAA profile of milk protein remained rather invariable during the whole lactation period, what suggests a relative constancy in the pattern of protein fractions in the mature milk of the IB sow. Milk GE was 4.626 ± 0.145 MJ/kg. Milk intake per piglet tended to be greater in Trial 2 (832 vs. 893 g/d, respectively; $P = 0.066$).

Compared with conventional piglets, the composition of the IB piglets at birth shows increased protein, fat and ash contents, and consequently, greater energy density. Additionally, the empty body protein of the IB pig contains increased amounts of His, Met, Tyr, Lys and Arg (approx. 48, 39, 29, 24 and 244%, respectively) and lower concentrations of Asp, Glu and Pro (approx. 21, 18 and 15%, respectively).

Piglet body gain contained 172.1 ± 1.3 , 151.5 ± 3.5 , 41.4 ± 0.6 and 635 ± 3 g/kg of protein, fat, ash and water, respectively, and 10.127 ± 0.126 MJ/kg of gross energy. Over the 34-d lactation, the IB piglets grew at an average rate of 168 ± 3 g/d, irrespective of trial replicate. A steady decline of piglets' body gain - from 202 to 130 g/d, on average- was observed as lactation advanced. As a result, there was a continuous decrease in gain to milk ratio (0.331 to 0.142 g gain/ g milk intake) with progress of lactation. Gain to milk ratio and gain / MJ milk GE intake did not differ statistically between trials being on average 0.195 ± 0.002 and 41.9 ± 0.5 . This indicates an average energy cost of 23.9 (1/41.9) kJ milk GE/g piglet gain. The overall efficiency of protein accretion (g CP gain per g CP milk intake) was low and declined in Trial 2 (0.619 vs. 0.571; $P = 0.016$). Daily nutrient and energy deposition between birth and weaning were 27.4 ± 0.5 g protein, 24.2 ± 0.8 g fat and $1,615 \pm 40$ kJ energy. The whole-body protein of piglets at weaning and the protein deposited in the whole body along the lactation period showed a very close AA pattern. Among EAA, His and Arg show the highest fractional retentions (g AA retained/ g AA ingested) in whole-body tissues (1.019 ± 0.025 and 0.913 ± 0.017 , respectively) and also

the highest body to milk ratios (1.50 and 1.41, respectively). Gly and Ala presented, among NEAA, the highest efficiencies of utilization for tissue deposition (1.803 ± 0.057 and 1.375 ± 0.026 , respectively) and body to milk ratios (2.75 and 2.12, respectively).

Piglet energy requirements for maintenance were 404 kJ ME/kg BW^{0.75}. ME was used for growth with a net efficiency of 0.584. The estimations for the partial efficiencies of utilization of ME for protein (kp) and fat (kf) deposition were 0.373 and 0.696, respectively. Such low efficiency values can account for the poor conversion of milk energy into body energy retention. These results suggest that the poor efficiency of utilization of sow's milk nutrients, and not a shortage in milk nutrient supply, would explain the low rate of growth of the Iberian suckling piglet in comparison with conventional or lean genotypes. Nevertheless, the observed shortage in the supply of some amino acids might additionally limit the accretion of protein in piglets' body.

In the other front, previous own research suggested that Iberian gilts were comparatively less affected by a similar lysine deficiency than Landrace gilts of similar body weight. As the absorption of amino acids of microbial origin has been demonstrated to occur in the small intestine of pigs, and the Iberian pig has higher relative size of the gastrointestinal tissues than the conventional pigs, we hypothesized that the IB pigs may benefit from a relatively higher absorption of lysine from microbial origin, specifically from an increased absorption of the Lys synthesized by the microbiota hosted in their small

intestine. To challenge this hypothesis, an experiment was performed with 22 castrated male piglets. Half of them were purebred Iberian of Silvela strain (Ib) and the rest Landrace x Large White (Ld x LW) with 48 ± 2 and 45 ± 2 d of age, respectively. Eight piglets from each breed consumed an experimental diet containing an inorganic source of ^{15}N (ammonium sulphate), and half of them (4 per breed) were allocated in metabolic cages to prevent coprophagy, as a way to evaluate the contribution of coprophagy to the incorporation of amino acids of microbial origin to animal tissues. The remaining 3 piglets per breed consumed an unlabelled diet. Pigs consumed the labelled diet for 10 days before being slaughtered. On slaughter day, viscera and carcass weights were recorded and gastrointestinal tissues carefully handled. The small intestine content was divided in approximately three equal length parts. Carcass and liver were homogenised separately. Samples from the content of the last third of the small intestine were processed to isolate bacteria. Aliquots of tissues and bacterial pellets were hydrolysed and purified by ion-exchange resins and the eluted amino acids were analysed in a GC-combustion/isotope ratio mass-spectrometer to give the percentage of ^{15}N respect to total N in Lys in the samples. As ^{15}N can be found in nature with a natural abundance of approximately 0.67%, we determined also the background ^{15}N -Lys in the three piglets from each breed which consumed the unlabelled diet. This procedure allowed us an accurate determination of the isotope enrichment in the labelled samples.

Allocation of the pigs did not have any significant effect on ^{15}N -lysine enrichment detected in tissues, indicating that during the experiment the animals did not practice coprophagy, and therefore, that the ^{15}N -Lys found in tissues was originated in all cases from the intestinal absorption of the amino acids synthesized by the microbiota. Liver enrichment was considerably higher in Ld × LW than in IB piglets (0.0273 ± 0.0013 vs. 0.0167 ± 0.0013 APE, $P < 0.05$) suggesting, opposite to our hypothesis, an increased incorporation of microbial Lys to tissues of Ld × LW piglets. It is likely that the enhanced absorption of microbial Lys and incorporation into body tissues that occurred in the Ld × LW piglets is the result of the deficient protein diet used in the experiment (to enhance the possible microbial amino acid absorption), as they have comparatively increased protein requirements than IB piglets. Anyway, the observed results do not indicate that the lower sensitivity to lysine deficiency of the IB pig could be explained by an increased absorption of amino acids from microbial origin.

The results obtained in the experimental research involved in this Doctoral Thesis allow us to draw the following CONCLUSIONS:

1st. Although total milk yield in the Iberian sow is comparatively lower than that reported in sows of conventional breeds, milk intake per piglet is similar due to the smaller litter size of the IB breed. As a consequence, milk intake is not a factor limiting the growth rate of the IB suckling piglet.

2nd. The concentration of protein and energy in the IB sow milk is within the range of values reported in the literature for sows of conventional breeds. Also, the concentration of some amino acids is within that range (Lys, Phe, His, Glu, Ser, Tyr, Gly and Cys), except for Thr, Pro, Asp, Ala and branched-chain amino acids, whose content is below the reported values, and Arg and Met, which show increased concentrations.

3rd. The IB suckling piglet requires more milk per gram of gain due to a lower efficiency of utilization of milk nutrients than conventional piglets. The efficiency of utilization of milk protein in the IB piglet is lower than the values reported in the literature for piglets of lean breeds, what suggests a comparative lower potential for protein accretion in the IB piglet which would limit tissue growth. His, Arg, Gly and Ala appear to be the most limiting amino acids in the IB sow milk.

4th. As compared with piglets of conventional breeds, the efficiency of milk energy retention is lower in the IB piglet, a fact which could be explained, at least in part, by the high energy cost of protein deposition observed in the IB suckling piglet.

5th. The poor rate of growth observed in the IB suckling piglet in comparison with piglets of lean breeds cannot be accounted for by a reduced milk intake or an outstanding shortage in milk nutrients. It is the result of both a

reduced potential for protein accretion and a low efficiency of utilization of milk protein and energy for deposition in animal tissues.

6th. The results obtained for ^{15}N -Lys enrichment in intestinal bacteria prevent us from quantifying the incorporation of Lys from microbial origin into the animal tissues. Nevertheless, assuming a similar enrichment between both pig types, as they had similar intakes of a diet containing an inorganic source of ^{15}N , and on the basis of the high ^{15}N -Lys enrichment observed in the liver, we state that the incorporation of microbial Lys to tissues was comparatively higher in the Ld x LW piglets.

10. Bibliografía

Agricultural Research Council (ARC), 1981. The nutrient requirements of pigs. Commonwealth Agricultural Bureau, Slough, Reino Unido.

Agrodigital.com (2006):

http://www.mapa.es/gabinete/nota.asp?codi=4532_AT130706

Algers, B. 1993. Nursing in pigs: Communicating needs and distributing resources. J. Anim. Sci. 71:2826.

Alston-Mills B, Iverson S.J. and Thompson M.P., 2000. A comparison of the composition of milks from Meishan and crossbred pigs. Livestock Production Science 63, 85-91.

Atwood C.S. and Hartmann P.E., 1992. Collection of fore and hind milk from the sow and the changes in milk composition during suckling. Journal of Dairy Research., 59: 287-298.

Aumaitre, A.; Duée, P. H. 1974 : Composition en acides aminés des protéines corporelles du porcelet entre la naissance et l'âge de huit semaines. Annales de Zootechnie 23, 231-236..

Barba C., Camacho M.E., sereno J.R.B., Dieguez E. y Delgado J.V., 2002. Caracterización productiva de las variedades del cerdo Ibérico en el periodo de predestete. Arch. Zootec. 51:229-233.

Barea R, Nieto R and Aguilera JF 2007. Effects of the dietary protein content and the feeding level on protein and energy metabolism in IB pigs growing from 50 to 100 kg body weight. Animal 1, 357-365.

Belenguer A, Balcells J, Guada JA, Decoux M and Milne E. 2005. Protein recycling in growing rabbits: contribution of microbial lysine to aminoacid metabolism. Br J Nutr 94, 763–770.

- Bender DA 1985. Amino Acid Metabolism. John Wiley & Sons, Chichester, UK
- Berkeveld M., Langendijk P., Soede N.M., Kemp B., Taverne M.A.M., Verheijden J.H.M., Kuijken N. and Koets A.P., 2009. Improving adaptation to weaning: Effect of intermittent suckling regimens on piglet feed intake, growth, and gut characteristics. J. Anim. Sci. 87, 3156-3166.
- Besana. Portal Agrário: <http://www.besana.es/web/noticias/200912/el-sector-del-jamon-serrano-preve-una-caida-de-las-ventas-del-20-en-navidad-por-la-crisis/>
- Blaxter, K.L. 1989. Energy metabolism in animals and man. Cambridge University Press, Reino Unido.
- Braude R, Coates ME, Henry KM, Kon SK, Rowland SJ, Thompson SY and Wolker DM 1947. A study of the composition of sow's milk. British Journal of Nutrition 1, 64-77.
- Bravo A. 2010. Norma de Calidad para la carne, el jamón, la paleta y la caña de lomo ibéricos. Real Decreto 1469/2007, de 2 de noviembre (BOE 3/11/2007). La norma: mesa del Ibérico y datos de certificación. Sólo cerdo Ibérico. Abril 2010. Nº 23, 87-91.
- Buxadé C., Daza A. 2001. Porcino Ibérico: aspectos claves. Ediciones Mundiprensa. Madrid. Spain.
- Campbell R.G. and Dunkin A.C., 1982. The effect of birth weight on the estimated milk intake, growth and body composition of sow-reared piglets. Anim. Prod. 35:193-197.

- Campbell RG and Dunkin AC 1983. The effects of energy intake and dietary protein on nitrogen retention, growth performance, body composition and some aspects of energy metabolism of baby pigs. *British Journal of Nutrition* 49, 221-230.
- Chapinal, G.; Dalmau, A.; Fàbrega, G.; Manteca, X.; Ruiz, J. L.; Velarde, A.. "Bienestar del lechón en la fase de lactación, destete y transición". *Avances en Tecnología Porcina*, vol.3 (abril 2006), p. 77-89
- Charneca, R., Nunes, JLT and Le Dividich J 2010. Body composition and blood parameters of newborn piglets from Alentejano and conventional (Large White x Landrace) genotype. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8, 317-325.
- Close WH and Stanier MW 1980. The energy requirement for growth in the early-weaned pig. In *Energy metabolism*. EAAP publication no. 26, pp. 399-402. Cambridge, UK.
- Clowes E.J., Williams I.H., Baracos V.e., Pluske J.R., Cegielski A.C., Zak L.J. and Aherne F.X., 1998. Feeding lactating primiparous sows to establish three divergent metabolic states: II. Effect on nitrogen partitioning and skeletal muscle composition. *Journal of animal Science* 76, 1154-1164.
- Coffey M.T., Seerley R.W. and Mabry J.W., 1982. The effect of source of supplemental dietary energy on sow milk yield, milk composition and litter performance. *J. Anim. Sci.* 55, 1388-1394.
- Cranwell, P. D; Moughan, P. J., 1989: Biological limitation imposed by the digestive system to the growth performance of weaned pigs. In:

- Barnett, J. L. and Hennessy, D. P. (ed.), Manipulating Pig Production II. Australasian Pig Science Association, pp. 140-159. Werribee, Victoria, Australia.
- Csapó, J.; Martin, T. G.; Csapó-Kiss, Z. S.; Házás, Z., 1996: Protein, fats, vitamin and mineral concentrations in porcine colostrum and milk from parturition to 60 days. *International Dairy Journal* 6, 881-902.
- Darragh, A.J., Moughan, P.J, 1998. The Composition of Colostrum and Milk. En "The Lactating Sow". Ed. M.W.A. Verstegen and P.S. Moughan. Wageningen University Press.
- Davis, T. A.; Fiorotto, M. L.; Reeds, P. J., 1993: Amino acid composition of body and milk protein change during the suckling period in rats. *Journal of Nutrition* 123, 947-956.
- Davis, T. A.; Nguyen, H. V.; García-Bravo, R.; Fiorotto, M. L.; Jackson, E. M.; Reeds P. J., 1994: Amino acid composition of the milk of some mammalian species. Changes with the stage of lactation. *British Journal of Nutrition* 72, 845-853.
- Daza. a., Riopérez J. and Centeno C., 2004. Short communication. Changes in the composition of sow's milk between days 5 to 26 of lactation. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2(3), 333-336.
- Diéguez Garbayo E. (2001). Libro Porcino Ibérico: aspectos claves. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. Capítulo II: Base Animal: pasado, presente y futuro. Pág. 49-82.

- Dourmad, J. Y.; Etienne, M.; Noblet, J., 1991 : A contribution to the study of amino acid requirement for lactation in sows. Journées de Recherches Porcines en France 23, 61-68..
- Duee, P. H.; Jung, J., 1973: Amino acid composition of sow's milk. Annales de Zootechnie 22, 243-247.
- Elliot, J. I.; Lodge, G. A., 1977: Body composition and glycogen reserves in the neonatal pig during the first 96 hours postpartum. Canadian Journal of Animal Science 57, 141-150.
- Elliott, R. F.; Vander Noot, G. W.; Gilbreath, R. L.; Fisher, H., 1971: Effect of dietary protein level on composition changes in sow colostrum and milk. Journal of Animal Science 32, 1128-1137.
- Elsley FWH 1971. Nutrition and lactation in the sow. In Lactation (ed, IR Falconer), pp. 393-411. Butterworths, London, UK.
- Escuela Universitaria Ingeniería Técnica Agrícola (INEA), 2002 : http://www.inea.uva.es/web/zootecnia/Monogastricos/cerdo_iberico.htm
- Etienne M., Dourmad J.-Y., Noblet J., P.J, 1998. The influence of some sow and piglet characteristics and environmental conditions on milk production. En "The Lactating Sow". Ed. M.W.A. Verstegen and P.S. Moughan. Wageningen University Press.
- Fahmy MH 1972. Comparative study of colostrum and milk composition of seven breeds of swine. Canadian Journal of Animal Science 52, 621-627.

- Fernández-Fígares I., Lachica M., Nieto R., Rivera-Ferre M.G. Y Aguilera J.F., 2007. Serum profile of metabolites and hormones in obese(Iberian) and lean (Landrace) growing gilts fed balanced or lysine-deficient diets. *Livestock Science* 110, 73-81.
- Forero Vizcaíno, F.J. 2002. El cerdo Ibérico pieza a pieza. Grupo de desarrollo rural de Siera de Aracena y Picos de Aroche.
- Fraser, D. 1980. A review of the behavioural mechanism of milk ejection of the domestic pig. *Appl. Anim. Ethol.* 6:247.
- Gädeken D, Oslage HJ and Böhme H 1985. Untersuchungen zum energetischen Erhaltungsbedarf und zur Verwertung der umsetzbaren Energie für den Protein- und Fettansatz bei Ferkeln. *Archiv fur Tierernährung* 35, 481-494.
- García Valverde, R. 2007. Determinación de la contribución relativa de bellota y hierba a la ingesta energética y proteica global del cerdo Ibérico en montanera. Estudio de la interacción de dichos recursos desde los puntos de vista digestivo y metabólico. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba.
- García-Valverde, R., Barea, R., Lara, L. Nieto, R. y Aguilera, J.F. 2007. The effects of feeding level in the rates of deposition of protein and fat in the empty body of heavy Iberian pigs. *Livestock Science* (disponible "on line"), doi:10.1016/j.livsci.2007.05.005
- Gonyou H.W., Beltranena E., Whittington D.L. and Patience J.F.,1998. The behaviour of pigs weaned at 12 and 21 days of age from weaning to market. *Can. J. Anim. Sci.* 78:517-523.

- Hartman D.A. and Pond W.G., 1960. Design and use of a Milking Machine for Sows. *Journal of animal Science*, 19. 780-785.
- Hughes E.H. and Hart H. G. Production and Composition of Sow's Milk *J. Nutr.*, Mar 1935; 9: 311 - 322.
- Jensen, P., 1986. Observations on the maternal behaviour of free-ranging domestic pigs. *Appl. Anita. Behav. Sci.*, 16: 131--142.
- Jentsch, W.; Beyer, M.; Schiemann, R.; Hoffmann, L., 1995: Untersuchungen zum energie- und stickstoffumsatz van graviden und laktierenden sauen sowie von saugferkeln. 7.Mitteilung – Energie- und Stickstoffumsatz von Saugferkeln. *Archiv für Tierernährung* 47, 319-344.
- Jesus Cruz. Eurocarne, N° 180. Octubre 2009.
- King R.H., Mullan B.P., Dunshea F.R., Dove H., 1997 The influence of piglet body weight on milk production of sows. *Livestock Production Science*, 47 (2), 169-174
- King, R. H. 1998: Dietary amino acids and milk production. In: Verstegen, M. W. A.; Moughan, P. J. and. Scharama, J. W (ed.), *The lactating sow*, pp.131-141. Wageningen Pers, Wageningen, The Netherlands.
- King, R. H.; Rayner, C. J.; Kerr, M., 1993: A note on the amino acid composition of sow's milk. *Animal Production* 57, 500-502.
- Klaver J, van Kempen GJM, de Lange PGB, Verstegen MWA and Boer H 1981. Milk composition and daily yield of different milk components as affected by sow condition and lactation/feeding regimen. *Journal of Animal Science* 52, 1091-1097.

- Klobasa F, Werhahn E and Butler JE 1987. Composition of sow milk during lactation. *Journal of Animal Science* 64, 1458-1466.
- Laguna Sanz, E. 1998. *El cerdo Ibérico en el próximo milenio*. Ediciones Mundiprensa, Madrid, Spain.
- Lawlor P.G., Lynch P. B., Caffrey P. J. and O' Doherty J.V.,2002. Effect of pre- and post-weaning management on subsequent pig performance to slaughter and carcass quality. *Animal Science* 75, 245-256.
- Le Dividich J and Noblet J 1981. Colostrum intake and thermoregulation in the neonatal pig in relation to environmental temperature. *Biol. Neonate* 40, 167-174.
- Lewis A.J., Speer V.C. and Haught D.G., 1978. Relationship between yield and composition of sow's milk and weight gains of nursing pigs. *Journal of Animal Science*. Vol 47, N°3, 634-638.
- Liotta L, Madonia G, Chiofalo B, Margiotta S, Riolo EB and Chiofalo V 2007. Milk composition of "Nero Siciliano" sow. Preliminary results. *Italian Journal of Animal Science* 6 (Suppl. 1), 692 (Abstr.).
- López Bote C.J, Fructuoso G., Mateos G.G. 2000. Sistemas de producción porcina y calidad de la carne. *El cerdo Ibérico*. En: XVI Curso de Especialización FEDNA (pp. 79-111). Barcelona, 6-7 Septiembre 2000.
- Macfarlane et al., 1969. W.V. Macfarlane, B. Howard and B.D. Siebert, Tritiated water in the measurement of milk intake and tissue growth of ruminants in the field. *Nature* 221 (1969), pp. 578-579

- Madec F., Bridoux N., Bounaix S., Jestin A., 1998. Measurement of digestive disorders in the piglet at weaning and related risk factors. *Preventive Veterinary Medicine* 35, 53-72.
- Mahan D.C. and Lepine A.J., 1991. Effect of pig weaning weight and associated nursery feeding programs on subsequent performance to 105 kilograms body weight. *Journal of Animal Science* 69, 1370-1378
- Manners M. J. and McCrea M. R., 1963. Changes in the chemical composition of sow -reared piglets during the 1st month of life *Brit. J. Nutr.* 17, 495-513.
- Martínez H., 2010. Alimarket: Información económica sectorial. <http://www.alimarket.es/alimarket-portal/noticia/34447/El-jamon-blanco-entra-en-la-guerra-del-iberico>
- Mavromichalis I., Parr T.M., Gabert V.M. and Baker D.H., 2001. True ileal digestibility of amino acids in sow's milk for 17-day-old pigs. *J. Anim. Sci.* 79: 707-713.
- McBride, G. 1963. The "teat-order" and communication in young pigs. *Anim. Behav.* 1153.
- Merlot E., Meunier-Salaun M.C., Prunier A., 2004. Behavioural, endocrine and immune consequences of mixing in weaned piglets. *Applied Animal Behaviour Science*, 85 (3-4), pp. 247-257
- Metges CC, Petzke KJ, El-Khoury AE, Henneman L, Grant I, Bedri S, Regan MM, Fuller MF and Young VR, 1999. Incorporation of urea and ammonia nitrogen into ileal and fecal microbial proteins and plasma

- free amino acids in normal men and ileostomates. *Am J Clin Nutr* 70, 1046–1058.
- Metges, C. C. and Petzke, K. J., 2005. Utilization of essential amino acids synthesized in the intestinal microbiota of monogastric mammals. *Br. J. Nutr.* 94, 621-622.
- Milligan B.N, Dewey C.E., de Grau A.F., 2002. Neonatal-piglet weight variation and its relation to pre-weaning mortality and weight gain on commercial farms. *Preventive Veterinary Medicine* 56, 119-127.
- Milligan B.N, Fraser D., Kramer D.L., 2002. Within-litter Barth weight variation in the domestic pig and its relation to pre-weaning survival, weight gain, and variation in weaning weights. *Livestock Production Science* 76, 181-191.
- Milon A, Aumaitre A, Le Dividich J, Franz J and Metzger J 1983. Influence of birth prematurity on colostrum composition and subsequent immunity of piglets. *Ann. Rech. Vet.* 14, 533-540.
- Morales, J., Pérez, J.F., Baucells, M.D., Mouro, J., Gasa, J., 2002. Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn-sorghum-acorn-based diets. *Livestock Production Science* 77:195-205.
- National Research Council 1998. Nutrient requirement of swine. 10th revised edition. National Academic Press, Washington, D.C. USA.
- Nieto R, Miranda A, García MA and Aguilera JF 2002. The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and

- energy utilization in growing IB pigs from 15 to 50 kg body weight. *British Journal of Nutrition* 88, 39-49.
- Nieto R., Rivera M., García M.A., Aguilera J.F., 2002. Amino acid availability and energy value of acorn in the Iberian pig. *Livest Production Science* 77, 227-239.
- Nieto, R., Lara, L., García, M.A., Gómez, F., Zalvide, M., Cruz, M., Pariente, J.M., Moreno, A., Aguilera, J.F., 2001. Evaluación de un sistema integrado de alimentación en el cerdo Ibérico. Análisis del consumo de aliento e índices productivos. *Sólo Cerdo Ibérico* 6:57-69.
- Nieto, R., Lara, L., García, M.A., Vilchez, M. A. Y Aguilera, J.F. 2003. Effects of dietary protein content and feed intake on carcass characteristics and organ weights of growing Iberian pigs. *Animal Science* 77:47-56.
- Noblet J and Etienne M 1986. Effect of energy level in lactating sows on yield and composition of milk and nutrient balance of piglets. *Journal of Animal Science* 63, 1888-1896.
- Noblet J and Etienne M 1987. Body composition, metabolic rate and utilization of milk nutrients in suckling piglets. *Reproduction, Nutrition and Development* 27, 829-839.
- Noblet J and Etienne M 1989. Estimation of sow milk nutrient output. *Journal of Animal Science* 67, 3352-3359.
- Pérez, F.A., 2009. Prácticas de manejo del lechón en maternidad para mejorar su sobrevivencia y aumentar la productividad. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. ISSN: 1695-7504. 2009 Vol. 11, Nº 1

- Pettigrew J. E., Cornelius S. G, Moser R. L. and Sower A. F., 1987. A refinement and evaluation of the isotope dilution method for estimating milk intake by piglets. *Livestock Production Science*, Volume 16, Issue 2, February 1987, Pages 163-174
- Pluske J.R. and Dong G.Z., 1998. *The Lactating Sow. Chapter 3: Factors influencing the utilisation of colostrum and milk.* Wageningen Pers. The Netherlands.
- Pluske J.R., Le dividich J., Verstegen M.W.A. 2003. *Weaning the pig: concepts and consequences.* Wageningen Academic Publishers.
- Pluske J.R., Williams I.H., Zak L.J., Clowes E.J., Cegielski A.C. and Aherne F.X., 1998. Feeding lactating primiparous sows to establish three divergent metabolic states: III. Milk production and pig growth. *Journal of Animal Science* 76, 1165-1171.
- Pond W.G., VanVleck L.D. and Hartman D.A., 1962. Parameters for milk yield and for percents of ash, dry matter, fat and protein in sows. *J. Anim. Sci*, 21: 293-297.
- Puppe B., Tuchscherer M., Tuchscherer A., 1997 The effect of housing conditions and social environment immediately after weaning on the agonistic behaviour, neutrophil/lymphocyte ratio, and plasma glucose level in pigs. *Livestock Production Science* 48, 157-164.
- Quiniou N., Dagorn J., Gaudré D., 2002. Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science* 78, 63-70.

- Renaudeau D, Noblet J and Dourmad JY 2003. Effect of ambient temperature on mammary gland metabolism in lactating sows. *Journal of Animal Science* 81, 217-231.
- Riopérez, J., Daza, A., Centeno, C., Jiménez, S. 1998 Composición nutritiva de la leche de cerda en función del orden cronológico de sus mamas. *Anaporc* 184: 66-78.
- Rivera Ferre, M.G., 2003. La renovación proteica corporal en el cerdo Ibérico en crecimiento. Efecto de alteraciones en el aporte y composición de la proteína de la dieta. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba.
- Rivera-Ferre M.G., Aguilera J.F. and Nieto, R., 2005. Muscle fractional protein synthesis is higher in Iberian than Landrace growing pigs fed adequate of lysine deficient diets. *Journal of Nutrition* 135, 469-478.
- Rivera-Ferre M.G., Aguilera J.F. and Nieto, R., 2006. Differences in whole-body protein turnover between Iberian and Landrace pigs fed adequate of lysine deficient diets. *J. Anim. Sci.* 84, 3346-3355.
- Ruiz-Guerrero, V, 2008. Absorción de aminoácidos de origen microbiano en el cerdo. Puesta a punto de la metodología necesaria para su determinación. Trabajo de investigación tutelada, Máster Universitario en Biología Agraria y Acuicultura, Universidad de Granada.
- Speer V.C. and Cox D.F., 1984. Estimating milk yield of sows. *Journal of Animal Science*, vol. 59: 1281-1285.

- Spinka M, Illman G, Algers B and Stetková Z 1997. The role of nursing frequency in milk production in domestic pigs. *Journal of Animal Science* 75, 1223-1228.
- Tauson, A. H.; Fink, R.; Chwalibog, A; Hansen, N. E., 2003: Utilisation of essential milk amino acids for body gain in mink kits. In: Souffrant, W. B. and Metges, C. C. (ed.), *Progress in research on energy and protein metabolism*. EAAP Publ. No. 109, pp. 817-820. Rostock-Warnemünde, Germany.
- Torrallardona D, Harris CI, Coates ME and Fuller MF, 1996. Microbial amino acid synthesis and utilization in rats: incorporation of ^{15}N from $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ into lysine in the tissues of germ-free and conventional rats. *Br J Nutr* 76, 689–700.
- Torrallardona, D., Harris, C.I. and Fuller, M.F., 2003a. Pigs' gastrointestinal microflora provide them with essential amino acids. *J. Nutr.* 133, 1127–1131.
- Torrallardona, D., Harris, C.I. and Fuller, M.F., 2003b. Lysine synthesized by the gastrointestinal microflora of pigs is absorbed, mostly in the small intestine. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284, E1177-E1180.
- Valros, A.E., Rundgren M., Spinka M., Saloniemi H., Rydhmer L., Algers B., 2002. Nursing behaviour of sows during 5 weeks lactation and effects on piglet growth. *Applied Animal Behaviour science* 76, 93-104.
- Verstegen M.W.A., Moughan P.J. , Schrama J.W., 1998. *The Lactating Sow* Wageningen Academic Publishers.

- Vilchez Campillos, M.A.. 2004. Efectos observados en el rendimiento productivo y composición tisular del cerdo Ibérico en crecimiento subsiguientes a cambios en la ingestión diaria de energía y proteína. Trabajo profesional fin de carrera, Universidad de Córdoba.
- Williams, I.H. 1995. sow's milk as a major nutrient source before weaning. Page 107 in Manipulating Pig Production V.D.P. Hennessy and P.D. Cranwell. ed. Australian Pig Science Association, Werribee, Victoria, Australia.
- Wolter B.F., Ellis M. Corrigan B.P. and DeDecker J.M., 2002. The effect of birth weight and feeding of supplemental milk replacer to piglets Turing lactation on preweaning and postweaning growth performance and carcass characteristics. J. Anim. sci. 80: 301-308.
- Wu G., 2010. Biochemical and physiological limitations to efficiency of aminoacid utilization for animal growth. In Energy and protein metabolism and nutrition. EAAP publication N°.127. Wageningen Academic Publishers, pp 363-372.
- Wu, G., Bazer, F.W., Burghardt, R.C., Johnson,G.A., Kim, S.W., Knabe, D.A., Li,X.L., Satterfiled,M.C., Smith, S.B. and Spencer, T.E., 2010. Functional amino acids in swine nutrition and production. In: Dynamics in Animal Nutrition (J. Doppenberg, ed.), Wageningen Academic Publishers, the Netherlands (In Press).
- Wu, G., Knabe, D.A. and Kim, S.W., 2004. Argininenuitrition in neonatal pigs. J,Nutr 134, 2783S-2390S.

Xu R.J. and Cranwell P.D.,2003. The neonatal pig: gastrointestinal physiology and nutrition. Nottingham University Press. United Kingdom.

Yang et al., 1980. T.S. Yang, B. Howard and W.V. Macfarlane, A note on milk intake of piglets measured by tritium dilution. Anim. Prod. 31 (1980), pp. 201–203.

Zou S, McLaren DG and Hurley WL 1992. Pig colostrum and milk composition: comparisons between Chinese Meishan and US breeds. Livestock Production Science 30, 115-127.