

INFLUENCIA DE LA GESTACION Y DEL PLANO DE ALIMENTACION SOBRE EL NIVEL DE ACIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS EN EL PLASMA DEL GANADO OVINO

Por: J. A. Guada
J. S. González
J. A. Carriedo*

INTRODUCCION

Reid y Hinks¹⁹ y Reid²⁰ han demostrado que la concentración plasmática de ácidos grasos no esterificados (AGNE) es un índice de la movilización de los depósitos grasos, y, como tal, podría reflejar el grado de subalimentación de las ovejas gestantes. Observaciones más recientes parecen confirmar que una subalimentación moderada, durante el último tercio de la gestación, origina un aumento en el nivel plasmático de AGNE^{2, 3, 7, 17}.

Utilizando el nivel de AGNE en el plasma como criterio del estado nutritivo, Russel, Doney y Reid²⁴ y Robinson, Fraser y Bennett²² calcularon que las necesidades energéticas para los últimos días de la gestación eran de 89-100 g. de materia orgánica digestible/Kg de peso del cordero al nacimiento. Estas estimaciones, aunque superan a las calculadas mediante el método factorial por Langlands y Sutherland¹², son similares a las obtenidas por Rattray¹⁸ a partir de las variaciones en la composición corporal, determinada mediante el sacrificio de los animales. Asimismo, resultan ser superiores a las estimaciones obtenidas en pruebas de producción^{8, 15, 21, 27}.

Los resultados de Sykes y Field²⁸ y Heaney y Lodge⁹ obligan a considerar la utilidad del nivel plasmático de AGNE como indicador del balance energético durante la gestación. Estos autores sugieren que el aumento en la concentración plasmática de AGNE, durante el final de la gestación, pudiera ser un proceso fisiológico normal. A su vez, Lindsay¹² indica que el cambio en el equilibrio endócrino, como consecuencia de la gestación, podría determinar un aumento en la concentración plasmática de AGNE.

* Departamento de Genética y Mejora.
An. Fac. Vet. León, 1982, 28, 117-129.

El presente trabajo intenta explicar algunas de las diferencias observadas en las estimaciones de las necesidades energéticas y comprueba la utilidad del nivel plasmático de AGNE como indicador de la intensidad de la subalimentación en el último tercio de la gestación.

MATERIAL Y METODOS

Los datos utilizados en este trabajo proceden de dos experiencias planteadas para estudiar las necesidades energéticas y proteicas durante el último tercio de la gestación^{4, 5, 8}, y realizadas con un total de 135 ovejas Churras, de las cuales, 119 resultaron estar gestantes y 16 vacías.

Los planos de alimentación correspondientes a cada tratamiento, así como el número de ovejas utilizadas en cada uno de ellos se presentan en la Tabla I. La edad de las ovejas osciló entre 2,5 y 6 años, con un peso medio de 45,5 Kg.

TABLA I
Nivel de ingestión y número de ovejas por tratamiento en los experimentos 1 y 2

Tratamientos	Expt. 1				Expt. 2	
	E1	E2	E3	E4	E1	E2
Ingestión de materia seca (g/Kg PV ^{0.75})	40	46	51	56	53	60
N.º de ovejas						
Gestantes	13	16	14	12	33	31
No gestantes	5	1	2	4	1	3

En ambos experimentos las dietas utilizadas estuvieron compuestas por un 40% de paja de leguminosa troceada y un 60% de una mezcla de cebada, soja y un suplemento vitamínico mineral. En el experimento 1, el contenido proteico de la dieta fue del 12,3% de la materia seca, pero en el experimento 2, el contenido proteico variaba entre el 9 y el 16%, con objeto de aportar 3,0; 4,5 y 6,0 g de proteína aparentemente digestible/Kg PV^{0.75}, con cada nivel de ingestión de materia seca. Ya que no se observaron diferencias estadísticas significativas en la concentración plasmática de AGNE, entre los diferentes niveles de proteína⁴, los datos fueron agrupados de acuerdo con el nivel de ingestión de materia seca.

El plano de alimentación se fijó al principio de cada experimento y se mantuvo constante durante todo el período experimental. Todas las ovejas recibieron su ración individual, repartida en dos comidas, que se administraron a las 9 y 17 h., durante los últimos 75 días de la gestación. El contenido en materia seca de la ración y de los rechazos se determinó semanalmente.

La ingestión de materia orgánica digestible (MOD) se calculó utilizando los

coeficientes de digestibilidad, determinados en una prueba de balance realizada con 6 ovejas por cada tratamiento⁶.

Durante los últimos 60 días de la gestación se tomaron semanalmente muestras de sangre de la vena yugular de cada oveja, en tubos de plástico heparinizados. El plasma obtenido por centrifugación a 1.500 × G. se mantuvo congelado a -18°C hasta ser analizado por el método descrito por Itaya y Ui¹⁰ para determinar su contenido en AGNE.

RESULTADOS

En la Figura 1 se representan las variaciones en el nivel plasmático de AGNE durante los últimos 50 días de gestación.

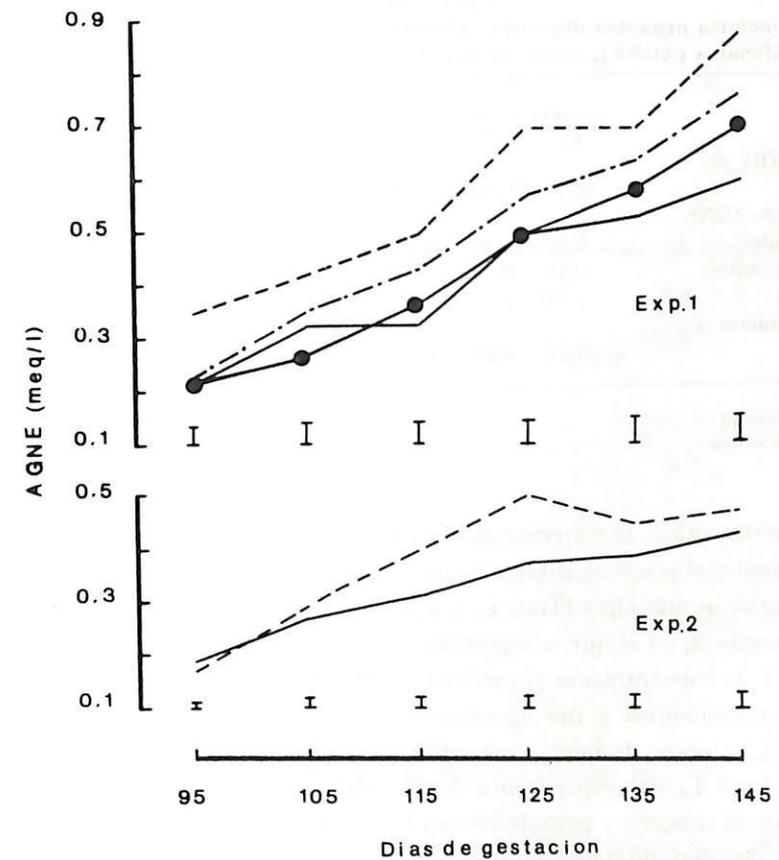


Figura 1.—Concentración media de ácidos grasos no esterificados en el plasma (AGNE) durante los últimos 50 días de la gestación.

Exp. 1: ---E₁, -.-E₂, - - -E₃, —●—E₄.

Exp. 2: ---E₁, - - -E₂ (I, error estándar de la media de los tratamientos, calculado asumiendo 14 y 32 ovejas por tratamiento en los Experimentos 1 y 2, respectivamente.)

En ambos experimentos, la concentración de AGNE aumentó continuamente durante el último tercio de la gestación, siendo mayor este aumento en el caso del experimento 1, en el que los niveles de la ingestión de MOD fueron más bajos. Exceptuando el tratamiento E₁ del experimento 1, el nivel plasmático AGNE fue similar para todos los tratamientos hasta el día 95 de la gestación, pero desde el día 115 hasta el final de la gestación, el nivel de AGNE fue mayor en las ovejas que recibían planos de alimentación bajos.

La ingestión diaria de MOD y la concentración media de AGNE en el plasma de las ovejas gestantes y no gestantes se presenta en la Tabla II junto con el número de corderos nacidos por oveja y su peso medio de nacimiento. En todos los tratamientos, el nivel plasmático de AGNE fue mayor en las ovejas gestantes que en las no gestantes (P < 0,001).

TABLA II
Ingestión de materia orgánica digestible (MOD), concentración media de ácidos grasos no esterificados (AGNE), corderos nacidos por oveja y su peso al nacimiento

Tratamiento	Expt. 1					Expt. 2		
	E1	E2	E3	E4	RSD†	E1	E2	RSD†
Ingestión de MOD (g/Kg PV ^{0.75})	26,70	26,90	33,60	36,10	0,650	34,40	39,10	2,180
Concentración de AGNE								
Ovejas gestantes	0,57	0,49	0,40	0,43	0,105***	0,37	0,32	0,075*
Ovejas no gestantes	0,15	0,28	0,12	0,17	—	0,12	0,14	—
Corderos/oveja	1,17	1,69	1,43	1,58	0,710	1,48	1,23	0,680
Peso de los corderos al nacimiento	4,58	5,04	4,72	5,36	1,522	4,66	4,27	1,215

* P < 0,05; *** P < 0,001
† Desviación estándar residual

En el experimento 1, la concentración media de AGNE disminuyó significativamente al aumentar el plano de alimentación. Sin embargo, la diferencia entre los dos niveles de ingestión más altos (Trat. E₃ y E₄) no fue estadísticamente significativa. En el experimento 2, en el que la ingestión media de MOD resultó superior a la del experimento 1, la concentración plasmática de AGNE varió, también, significativamente entre tratamientos y fue ligeramente más baja que las observadas en el experimento 1, a pesar de que la ingestión de MOD fue más alta que la de los tratamientos E₃ y E₄ del experimento 1. El diferente grado de subalimentación ocasionado por el número y peso de los corderos nacidos parece ser la explicación más probable de estas diferencias.

En la Figura 2 se ilustra el efecto del plano de alimentación sobre la concentración media de AGNE para las ovejas con partos sencillos y múltiples. En todos los planos de alimentación, el nivel plasmático de AGNE fue superior en las ovejas con partos múltiples que en las portadoras de un solo cordero. Por otra parte,

en ambos experimentos, el nivel medio de AGNE disminuyó alcanzando un valor aproximadamente 0,30 meq/l con el nivel de MOD más alto. Este valor es superior al observado en ovejas vacías.

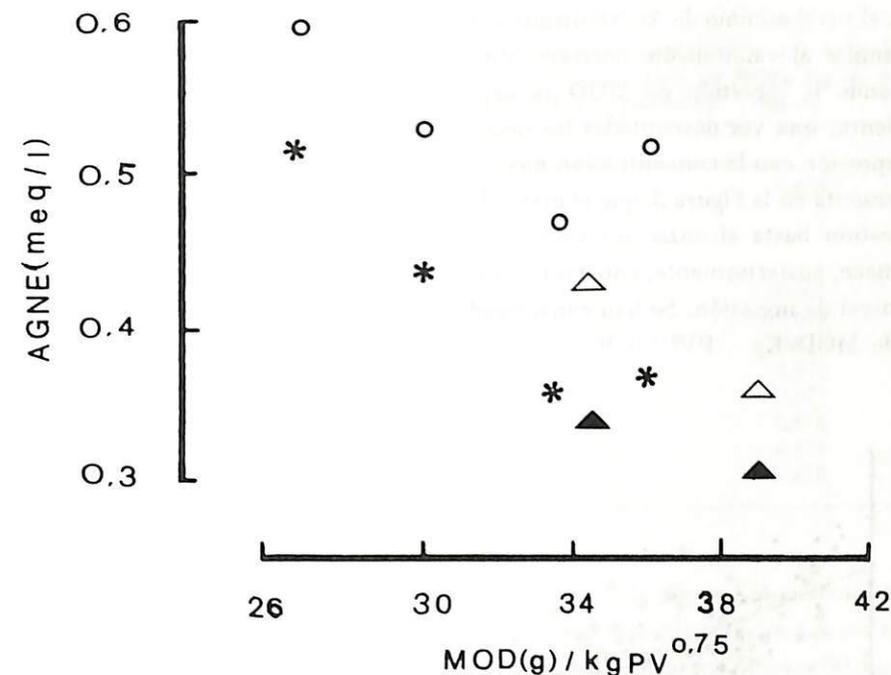


Figura 2.—Relación entre la concentración de ácidos grasos no esterificados en el plasma (AGNE) y la ingestión de materia orgánica digestible (MOD) durante los últimos 50 días de la gestación de ovejas con partos simples (* Exp. 1, ▲ Exp. 2) y múltiples (O Exp. 1, △ Exp. 2).

La concentración media de AGNE en el plasma (Y, meq/l) estuvo significativamente correlacionada con el peso de los corderos al nacimiento (X₁, kg; r = 0,31) y con la ingestión de MOD (X₂, g/Kg PV^{0.75}). La ecuación de regresión múltiple que relacionó estas variables fue:

$$Y = 0,0228 X_1 - 0,0186 X_2 + 0,94 \quad (1)$$

con un valor para el coeficiente de correlación múltiple de 0,66 y una desviación estándar residual (RSD) de 0,104.

La inclusión de un componente cuadrático para la ingestión de MOD redujo la varianza residual en un 4% (P < 0,05). Sin embargo, la utilización de modelos más complicados, que contemplaban la inclusión de un término de interacción, no permitió reducir significativamente la varianza residual. La ecuación resultante fue:

$$Y = 0,0245 X_1 - 0,0919 X_2 + 0,00109 X_2^2 + 2,14 \quad (2)$$

A partir de esta ecuación se puede calcular que la concentración mínima de AGNE en el plasma se alcanza con una ingestión de 42,2 g de MOD/Kg $PV^{0.75}$. Para una oveja, gestando un cordero de 4 Kg de peso al nacimiento, este nivel mínimo (0,30 meq/l) resulta superior al valor medio ($0,16 \pm 0,018$ meq/l) observado en las ovejas vacías (Tabla II). Si consideramos un peso de los corderos al nacimiento igual a cero, el nivel mínimo de AGNE disminuye a un valor de $0,20 \pm 0,039$ meq/l, que es muy similar al valor medio correspondiente a las ovejas vacías.

Cuando la ingestión de MOD se expresó por Kg de peso de los corderos al nacimiento, una vez descontadas las necesidades de mantenimiento, y se relacionó esta expresión con la concentración media de AGNE en el plasma, se encontró como se representa en la Figura 3, que el nivel plasmático de AGNE disminuye al aumentar la ingestión hasta alcanzar un valor base de aproximadamente 0,30 meq/l, que permanece, posteriormente, constante, con independencia de sucesivos incrementos en el nivel de ingestión. Se han considerado unas necesidades de mantenimiento de 24 g de MOD/Kg $PV^{0.75}$ 1, 11.

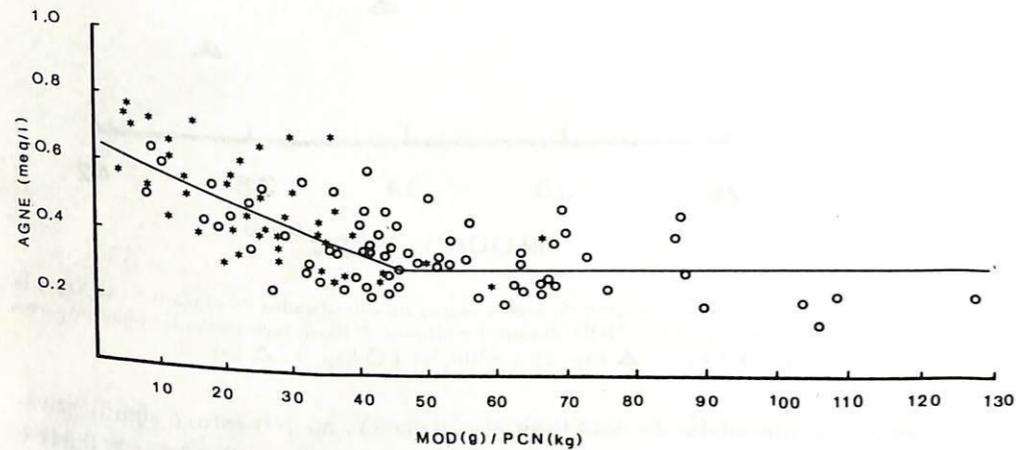


Figura 3.—Relación entre la concentración media de ácidos grasos no esterificados en el plasma (AGNE) y la ingestión de materia orgánica (MOD)/Kg. de peso del cordero al nacimiento (PCN). ○ Simples, * Múltiples.

La relación entre la concentración media de AGNE en el plasma (Y) y la ingestión de MOD expresada en g/Kg de peso de los corderos al nacimiento se estudió ajustando un modelo exponencial ($Y = a b^x$) y un modelo lineal descrito por el sistema de ecuaciones: $Y = b x + a$; $Y = c$, donde $c = b X_m + a$, siendo X_m la ingestión de MOD por encima de la cual la concentración de AGNE no continúa disminuyendo. Este modelo ha sido utilizado previamente por diversos autores, como Mehrez, Ørskov y McDonald¹⁶.

Los valores correspondientes a la RSD de los modelos exponencial y lineal para

una serie de valores se representan en la Tabla III, junto con los respectivos coeficientes de correlación. En el rango de X_m estudiadas, el modelo lineal mostró un mejor ajuste que el modelo exponencial y, por tanto, este último fue descartado.

TABLA III
Desviación estándar residual (RSD) y coeficientes de correlación (r) obtenidos al relacionar la concentración media de AGNE con la ingestión de MOD/Kg de peso de cordero al nacimiento con los modelos exponencial y lineal

	RSD	r
Modelo exponencial	0,1124	0,637
Modelo lineal		
Valores de X_m		
40	0,1023	0,671
42	0,1020	0,674
44	0,1018	0,676
45	0,1017	0,676
46	0,1016	0,677
48	0,1017	0,676
50	0,1020	0,674
55	0,1025	0,670

La RSD más baja y el coeficiente de correlación más alto se obtuvieron con una ingestión de 46 g de MOD/Kg de cordero, valor que representaría las necesidades de producción para una movilización mínima de AGNE durante los últimos 50 días de la gestación. La ecuación que corresponde a este valor es:

$$Y = 0,659 - 0,0072 X \quad (3)$$

en la que Y = concentración plasmática de AGNE (meq/l) y X = g de MOD ingerida/Kg de peso de los corderos al nacimiento.

Se puede calcular que el nivel plasmático de AGNE, que se corresponde con una ingestión de 46 g de MOD ($X = X_m$), es de $0,33 \pm 0,016$ meq/l, es decir el doble del valor observado en las ovejas vacías ($0,16 \pm 0,018$ meq/l) y similar al estimado como nivel mínimo a partir de la ecuación 2.

En la Tabla IV se presentan los resultados obtenidos cuando la relación entre el nivel plasmático de AGNE y el plano de alimentación fue calculada a intervalos de 10 días durante el último tercio de la gestación. Aunque la varianza residual fue alta y aumentó con el desarrollo de la gestación, los coeficientes de correlación fueron siempre estadísticamente significativos ($P < 0,001$).

La ingestión de MOD necesaria para evitar que la concentración plasmática de AGNE aumente por encima de un nivel basal mínimo mostró una tendencia a aumentar durante los últimos 50 días de la gestación.

TABLA IV
Ingestión de MOD/Kg de cordero requerida para alcanzar una movilización mínima de AGNE (valores X_m), desviación estándar residual (RSD), coeficientes de correlación (r), regresión (b) y valores de la ordenada en origen (a) correspondientes a diferentes periodos de la gestación

Días de gestación	MOD/Kg de peso del cordero al nacimiento	RSD	r	b	a
96	17	0,1094	0,50	0,0245	0,606
105	44	0,1202	0,49	0,0054	0,489
115	39	0,1284	0,49	0,0069	0,593
125	59	0,1515	0,56	0,0061	0,727
135	46	0,1881	0,52	0,0089	0,801
145	58	0,1947	0,63	0,0095	0,931

En la Figura 4 se representan los niveles base de AGNE estimados a intervalos de 10 días durante el último tercio de la gestación.

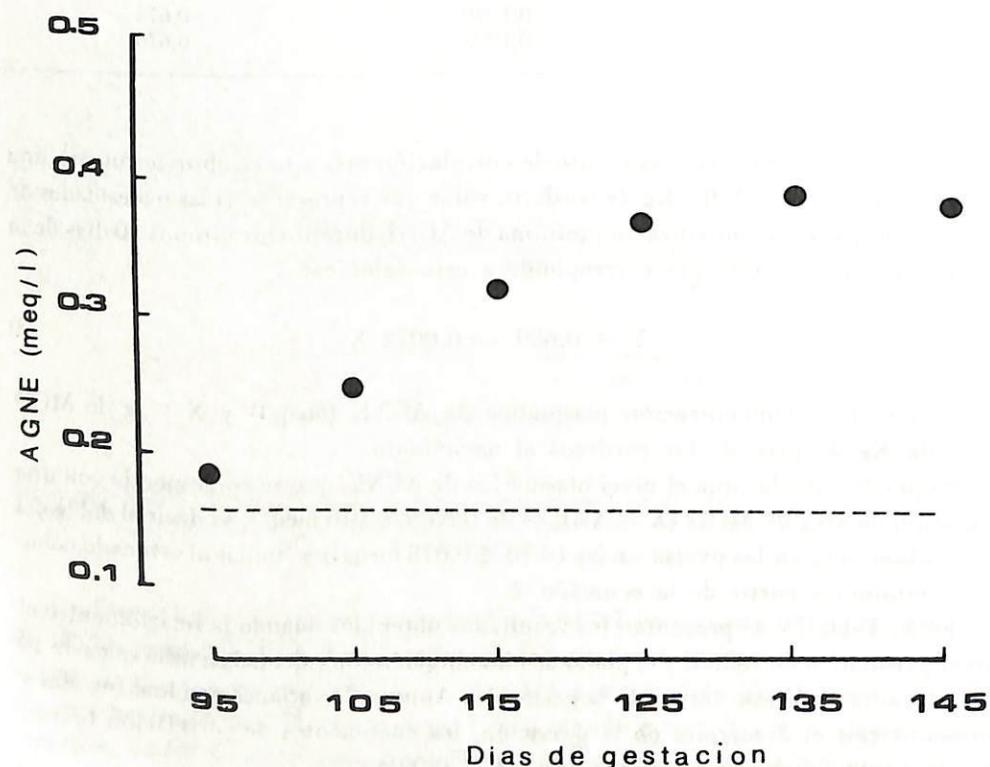


Figura 4.—Evolución del nivel base de ácidos grasos no esterificados en el plasma (AGNE) durante los últimos 50 días de la gestación (●) comparada con el valor medio en ovejas vacías (— — —).

A los 90 días de la gestación, el nivel base de AGNE fue similar al observado en las ovejas vacías, pero aumentó progresivamente con la fase de la gestación hasta duplicar este valor durante los últimos 30 días de la misma.

DISCUSION

Nuestros resultados muestran la existencia de una relación entre la concentración plasmática de AGNE y el grado de subalimentación en la oveja gestante y, por tanto, indican la utilidad que el nivel plasmático de AGNE puede tener como índice del estado nutritivo durante el último tercio de la gestación, de acuerdo con lo sugerido por Reid²⁰ y los resultados de diversos autores^{2, 7, 17, 22, 25}.

El hecho de que en el presente estudio se haya encontrado un nivel mínimo de AGNE en el plasma de las ovejas gestantes que resulta ser considerablemente más alto que el valor medio observado en las ovejas vacías, sugiere que parte del incremento en la concentración plasmática de AGNE en las ovejas gestantes es consecuencia de un efecto fisiológico de la gestación, sin relación con el estado nutritivo del animal. Además, cuando la concentración de AGNE se estudió a intervalos de 10 días, se encontró que esta movilización fisiológica de reservas adiposas aumentó progresivamente durante el final de la gestación. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Sykes y Field²⁸ y Heaney y Lodge⁹, quienes observaron un aumento en el nivel plasmático de AGNE en ovejas gestantes en balance de energía positivo.

Por otra parte, el rápido y progresivo incremento en el nivel de AGNE cuando la ingestión de MOD disminuyó por debajo de 46 g/Kg de peso de los corderos al nacimiento (Figura 3) sugiere que, además de la posible existencia de un factor fisiológico responsable de un cierto grado de movilización de AGNE durante las fases finales de la gestación, hay una respuesta a la subalimentación. Esto significa que, dentro del rango de ingestiones estudiadas, la concentración plasmática de AGNE puede ser utilizada como un indicador del estado nutritivo de las ovejas gestantes, siempre que los valores sean comparados con el nivel basal correspondiente a la misma fase de la gestación.

A partir de la ecuación 1 se puede calcular que una oveja que gesta un cordero de 4 Kg requiere 44,7 g de MOD/Kg $PV^{0.75}$ para mantener un nivel plasmático de AGNE de 0,2 meq/l, similar a la concentración media observada en las ovejas vacías. Suponiendo unas necesidades de mantenimiento de 24 g de MOD/Kg $PV^{0.75}$, las necesidades adicionales para la gestación serán de aproximadamente 90 g de MOD/Kg de cordero.

Esta estimación es comparable a los valores de 89 y 100 g de MOD/Kg de cordero calculadas, también, a partir de la concentración plasmática de AGNE por Russell y col.²⁴ y Robinson y col.²² como niveles adecuados para ovejas antes del parto. Sin embargo, esta estimación es mucho más alta que las obtenidas a partir de las variaciones en la composición corporal^{12, 14} o de ensayos de producción^{8, 15, 21, 27}.

Una ingestión de 46 g de MOD/Kg de cordero estimada en este trabajo como adecuada para lograr una movilización mínima de AGNE en ovejas gestantes (Tabla III) es similar a las necesidades medias que McClelland y Forbes¹⁵ y Guada y Ovejero⁸ han estimado para prevenir una pérdida neta de peso durante el último tercio de la gestación y al valor medio para los últimos 60 días de la gestación, calculado a partir de los datos de Rattray¹⁸ sobre la retención de energía en el útero grávido.

El nivel de ingestión de MOD calculado a intervalos de 10 días, durante el último tercio de la gestación, como necesario para prevenir la movilización de AGNE por encima del nivel base correspondiente, mostró una tendencia a aumentar al avanzar la gestación (Tabla IV). Estas estimaciones, aunque similares a las obtenidas de Rattray¹⁸ y Robinson y col.²² para el período comprendido entre los 100 y 125 días de la gestación, son inferiores a las correspondientes a las etapas finales de la gestación. Sin embargo, estas necesidades resultan, en todos los casos, superiores a las estimadas por Langlands y Sutherland¹² para períodos similares.

En la Figura 5 se comparan nuestras estimaciones, expresadas por unidad de peso fetal, con las obtenidas por Russell, Maxwell, Sibbald y McDonald²⁶. Los cálculos se realizaron suponiendo que el peso fetal representa el 29, 43, 59, 76 y 93 % del peso al nacimiento a los 105, 115, 125, 135 y 145 días de la gestación²³. También se asumió una prolificidad del 140 % y una duración media de la gestación de 149 días, como en el presente experimento, así como un contenido en energía metabolizable (EM) de la MOD de 3,75 Kcal/g.

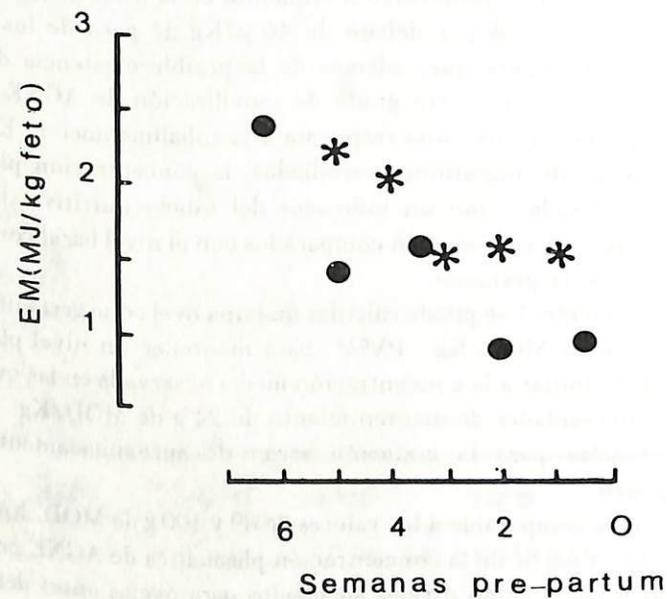


Figura 5.— Necesidades de energía metabolizable (EM) durante la última parte de la gestación. ● Nuestras estimaciones, * Russell y col.²⁶

Aunque ambas series de estimaciones muestran una tendencia similar, los valores correspondientes a las últimas fases de la gestación fueron algo más bajos en nuestro caso.

Es importante, sin embargo, señalar la alta variabilidad asociada con cualquier estimación de las necesidades energéticas basadas en la concentración plasmática de AGNE. Esto limita su utilidad como índice práctico de subalimentación durante la gestación.

RESUMEN

Se utilizaron 119 ovejas gestantes y 16 vacías, que recibieron 26,7; 29,9; 33,6; 34,4; 36,1 ó 39,1 g de materia orgánica digestible (MOD)/Kg PV^{0.75} /día y a las que se tomó una muestra de sangre por semana en el período de tiempo comprendido entre los días 90 y 145 de gestación, para estudiar el efecto de la alimentación y de la gestación sobre la concentración de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en el plasma.

La concentración de AGNE en el plasma de las ovejas gestantes varió significativamente con el nivel de ingestión de MOD durante la última parte de la gestación y fue siempre superior al observado en las ovejas vacías ($0,16 \pm 0,018$ meq/l). La concentración media de AGNE estuvo correlacionada con el nivel de ingestión y con la carga fetal ($R = 0,66$) y, cuando se expresó en relación con la ingestión de MOD por encima de mantenimiento/Kg de cordero, descendió al aumentar el nivel de alimentación hasta un nivel mínimo de $0,32 \pm 0,010$ meq/l, que permaneció constante a pesar de posteriores incrementos en el nivel de ingestión. Este nivel mínimo aumentó desde un valor de 0,18 meq/l en el día 90 de la gestación, similar al valor observado en las ovejas vacías, hasta un valor de 0,40 meq/l el día 145 de la gestación.

El hecho de que este nivel mínimo en la concentración de AGNE en el plasma aumentara en la última fase de la gestación sugiere la existencia de una movilización fisiológica de AGNE independiente del nivel de ingestión de energía durante este período de la gestación; sin embargo, por encima de este nivel mínimo, hubo una correlación entre la ingestión de MOD y la concentración de AGNE en el plasma, lo que indica la utilidad del nivel plasmático de AGNE como indicador de subalimentación durante la gestación.

Se estimó que la ingestión de MOD, por encima de las necesidades de mantenimiento de la madre, necesaria para prevenir la elevación en la concentración de AGNE por encima del nivel mínimo aumentaba desde 17 hasta 58 g/Kg de peso del cordero al nacimiento en el período de tiempo comprendido entre los días 90 y 145 de gestación, siendo el valor medio para los últimos 50 días de la gestación de 46 g.

THE EFFECT OF GESTATION AND LEVEL OF FEEDING ON PLASMA FREE FATTY ACID CONCENTRATIONS IN THE EWE

SUMMARY

Plasma free fatty acid (FFA) concentrations throughout late pregnancy were studied in two experiments in which blood samples were taken at weekly intervals from 90 to 145 days of gestation, from a total of 119 pregnant and 16 non-pregnant ewes receiving 26,7; 29,9; 33,6; 34,4; 36,1 and 39,1 g of digestible organic matter (DOM)/Kg $W^{0.75}$ daily.

In all the pregnant ewes plasma FFA concentration increased during late pregnancy and varied significantly with the level of DOM intake, being always higher than in non-pregnant ewes ($0,16 \pm 0,018$ meq/l). The mean FFA concentration was correlated to the level of intake and foetal burden ($R = 0,66$) and when expressed in relation to the DOM intake above maintenance/Kg of lamb birth weight, it decreased with the level of feeding to a minimum base level of $0,32 \pm 0,010$ meq/l that remained constant in spite of further increases in the level of feeding. When studied at intervals during late pregnancy, this base level increased between days 90 to 145 of pregnancy, from a value of 0,18, similar to that observed in non-pregnant ewes, to 0,40 meq/l.

The existence of an increasing basal level for plasma FFA concentration during late pregnancy suggests a physiological mobilization of FFA in late pregnancy independent of energy status. However, there was a correlation, above this base level, between DOM intake and plasma FFA concentration that supports the usefulness of plasma FFA level as an indicator of undernutrition in pregnancy.

The additional DOM intake, above maternal maintenance, required to prevent the rise in FFA concentration above such a base level was estimated to increase from 17 to 58 g/Kg lamb birth weight, between days 90 to 145 of gestation, the mean value for the last 50 days being 46 g.

BIBLIOGRAFIA

- 1) COOP, I. E. (1962).—The energy requirements of sheep for maintenance and gain. 1. Pen fed sheep. *J. Agric. Sci. Camb.*, **58**: 179-186.
- 2) DAVIES, P. J.; JOHNSTON, R. G., y ROSS, D. B. (1971).—The influence of energy intake on plasma levels of glucose, non-esterified fatty acids and acetona in the pregnant ewe. *J. Agric. Sci. Camb.*, **77**: 261-265.
- 3) GÁLVEZ, J. F., y ROMEVA, J. (1973).—Necesidades energéticas de la oveja manchega durante la gestación. *Anales I.N.I.A., Prod. Animal*, **4**: 66-77.
- 4) GONZÁLEZ, J. S.; GUADA, J. A., y OVEJERO, F. J. (1977).—Variaciones en el nivel plasmático de úrea, proteínas y ácidos grasos no esterificados en ovejas gestantes y lactantes, recibiendo diferentes niveles de energía y proteína durante el último tercio de la gestación. *Anales Fac. Vet. León*, **23**: 83-93.
- 5) GONZÁLEZ, J. S.; GUADA, J. A., y OVEJERO, F. J. (1979).—Necesidades proteicas de la oveja churra gestante. I. Efecto de la ingestión de energía y proteína sobre el peso de los corderos al nacimiento y las ganancias ponderales de las ovejas. *Anales I.N.I.A. Prod. Animal*, **10**: 95-105.

- 6) GONZÁLEZ, J. S.; GUADA, J. A., y OVEJERO, F. J. (1979).—Efecto de la ingestión de energía y proteína sobre la retención de nitrógeno en la oveja churra gestante. *Zootecnia*, **28**: 181-194.
- 7) GUADA, J. A.; ROBINSON, J. J., y FRASER, C. (1976).—The effect of a reduction in food intake during late pregnancy on nitrogen metabolism in ewes. *J. Agric. Sci. Camb.*, **86**: 111-116.
- 8) GUADA, J. A., y OVEJERO, F. J. (1977).—Efecto del plano de ingestión durante el último tercio de la gestación sobre algunas características productivas de la oveja churra. *Rev. Nutr. Animal*, **15**: 23-36.
- 9) HEANEY, D. P., y LODGE, G. A. (1975).—Body composition and energy metabolism during late pregnancy in the *ad libitum* fed ewe. *Can. J. Anim. Sci.*, **55**: 545-555.
- 10) ITAYA, K., y UI, M. (1965).—Colorimetric determination of free fatty acids in biological fluids. *J. Lipid Res.*, **6**: 16-20.
- 11) LANGLANDS, J. P.; CORBETT, J. L.; McDONALD, I., y PULLAR, J. D. (1963).—Estimates of energy required for maintenance by the adult sheep. 1. Housed sheep. *Anim. Prod.*, **5**: 1-9.
- 12) LANGLANDS, J. P., y SUTHERLAND, H. A. M. (1968).—An estimate of the nutrients utilized for pregnancy by merino sheep. *Br. J. Nutr.*, **22**: 217-227.
- 13) LINDSAY, D. B. (1973).—Metabolic changes induced by pregnancy in the ewe. En PAYNE, J. M.; HIBBITT, K. G., y SANSOM, B. F., *Production Diseases in Farm Animals*, Bailliere and Tindall, London: 107-114.
- 14) LODGE, G. A., y HEANEY, D. P. (1973).—Energy cost of pregnancy in single and twin bearing ewes. *Can. J. Anim. Sci.*, **53**: 479-489.
- 15) McCLELLAND, T. D., y FORBES, T. J. (1968).—A study of the effect of energy and protein intake during late pregnancy on the performance of housed Scottish Blackface. *Rec. Agric. Res.*, **17**: 131-139.
- 16) MEHREZ, A. Z.; ØRSKOV, E. R., y McDONALD, I. (1977).—Rates of rumen fermentation in relation to ammonia concentration. *Br. J. Nutr.*, **38**: 437-443.
- 17) PRIOR, R. L., y CHRISTENSON, R. K. (1976).—Influence of dietary energy during gestation on lambing performance and glucose metabolism in Finn-Cross ewes. *J. Anim. Sci.*, **43**: 1.114-1.124.
- 18) RATTRAY, P. V. (1974).—Energy requirements for pregnancy in sheep. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.*, **34**: 67-77.
- 19) REID, R. L., y HINKS, N. T. (1962).—Studies on the carbohydrate metabolism of sheep. XIX. The metabolism of glucose, free fatty acids, and ketones after feeding and during fasting or under-nourishment of non-pregnant, pregnant and lactating ewes. *Aust. J. Agric. Res.*, **13**: 1.124-1.136.
- 20) REID, R. L. (1963).—The nutritional physiology of the pregnant ewe. *Aust. Inst. Agric. Sci.*, **29**: 215-223.
- 21) ROBINSON, J. J., y FORBES, T. J. (1968).—The effect of protein intake during gestation on ewe and lamb performance. *Anim. Prod.*, **10**: 297-309.
- 22) ROBINSON, J. J.; FRASER, C., y BENNET, C. (1971).—An assesment of energy requirements of the pregnant ewe using plasma free fatty acid concentration. *J. Agric. Sci. Camb.*, **77**: 141-145.
- 23) ROBINSON, J. J.; McDONALD, I.; FRASER, C., y CROFTS, R. M. J. (1977).—Studies on reproduction in prolific ewes. 1. Growth of the products of conception. *J. Agric. Sci. Camb.*, **88**: 539-552.
- 24) RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M., y REID, R. L. (1967).—Energy requirements of the pregnant ewe. *J. Agric. Sci. Camb.*, **68**: 359-363.
- 25) RUSSEL, A. J. F.; DONEY, J. M., y REID, R. L. (1967).—The use of biochemical parameters in controlling nutritional state in pregnant ewes and the effect of undernourishment during pregnancy on lamb birth weight. *J. Agric. Sci. Camb.*, **68**: 351-358.
- 26) RUSSEL, A. J. F.; MAXWELL, T. J.; SIBBALD, A. R., y McDONALD, D. (1977).—Relationship between energy intake, nutritional state and lamb birth weight in Greyface ewes. *J. Agric. Sci. Camb.*, **89**: 667-673.
- 27) SHEEHAN, W.; LAWLOR, M. J., y BATH, I. H. (1977).—Energy requirements of the pregnant ewe. *Ir. J. Agric. Res.*, **16**: 233-242.
- 28) SYKES, A. R., y FIELD, A. C. (1972).—Effects of dietary deficiencies of energy, protein and calcium on the pregnant ewe. III. Some observations on the use of biochemical parameters in controlling energy undernutrition during pregnancy and on the efficiency of utilization of energy and protein for foetal growth. *J. Agric. Sci. Camb.*, **78**: 127-133.