



CREACIÓN Y PERSISTENCIA DE LA AVERSIÓN CONDICIONADA A HOJAS DE VID EN OVINO. APLICACIÓN AL PASTOREO DE VIÑEDOS EN PRIMAVERA

C.L. MANUELIAN FUSTÉ¹, E. ALBANELL TRULLÁS^{*1}, M. ROVAI¹, LL. GIRALT VIDAL², A.A.K. SALAMA¹, C. DOMINGO GUSTEMS² Y G. CAJA LÓPEZ¹

¹ Grup de Recerca en Remugants (G2R), Departament de Ciència Animal y dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona (Espanya).

² INCAVI Institut Català de la Vinya i el Vi, Plaza Agora 2-3, 08720, Vilafranca del Penedès (Espanya).

* elena.albanell@uab.cat

CREATION AND PERSISTENCE OF CONDITIONED SHEEP AVERSION TO GRAPEVINE LEAVES. APPLICATION FOR GRAZING VINEYARDS DURING SPRING

Historial del artículo:

Recibido: 09/01/2015

Revisado: 17/02/2015

Aceptado: 11/03/2015

Disponible online: 13/04/2015

Autor para correspondencia:

elena.albanell@uab.cat

ISSN: 2340-1672

Disponible en: <http://polired.upm.es/index.php/pastos>

Palabras clave:

Cloruro de litio, ovejas, pastoreo selectivo.

Keywords:

Lithium chloride, ewes, selective grazing.

RESUMEN

El pastoreo en viñedos se ve limitado por el daño que las ovejas pueden provocar en el cultivo, dada la alta palatabilidad de las hojas de vid. El objetivo del presente trabajo fue crear aversión a hojas de vid y evaluar su persistencia en ovejas (Manchega, n = 12; Lacaune, n = 12) durante tres años. El estudio incluyó la creación y validación de la aversión en condiciones experimentales en el primer año y en pastoreo en viñedos comerciales los años dos y tres. Los tratamientos consistieron en ovejas avertidas (AV, 225 mg LiCl/kg PV) y ovejas control (C, tratadas con agua). Durante el año uno la aversión se validó (30 min/prueba) en el aprisco y en viña simulada. Los siguientes años, las ovejas AV pastaron dos viñedos comerciales con cubierta espontánea (viñedo A y B). El tratamiento con LiCl dio lugar a que las ovejas AV rechazaran consumir las hojas de vid (AV vs. C; 0 vs. 95 ± 5 g/d). En los viñedos comerciales, las ovejas AV redujeron la materia seca de la cubierta vegetal en un 68 ± 8% y 44 ± 4% para A y B respectivamente. Sin embargo, cuando la cubierta fue poco palatable y escasa, las ovejas AV empezaron a consumir las hojas y brotes de vid, siendo necesaria una nueva dosis de LiCl (A, 100%; B, 50% ovejas). En conclusión, la AV fue una herramienta efectiva para controlar la cubierta vegetal del viñedo en primavera, siendo necesaria una supervisión de los animales.

ABSTRACT

Grazing vineyards is limited because of the crop damage which sheep could produce due to the high palatability of the leaves. The aim of this work was to create conditioned taste aversion (AV) to grapevine leaves and to evaluate its persistence in sheep (Manchega, n = 12; Lacaune, n = 12) throughout three years. The study included: AV induction and validation under experimental conditions in year one and grazing in commercial vineyards in years two and three. Ewes were divided in averted ewes (AV, 225 mg LiCl/kg BW) and control ewes (C, water blank). During year one validation test was done in the barn and in a simulated vineyard. The next two years AV ewes grazed two commercial vineyard plots with spontaneous pasture (vineyard A and B). As a consequence of LiCl administration (year one), the AV ewes rejected the grapevine leaves (AV vs. C; 0 vs. 95 ± 5 g/d). In commercial vineyards the AV ewes reduced the herbage between vine lines by 68 ± 8% and 44 ± 4% (DM basis) in the A and B vineyards respectively. However, when the herbage was less palatable and scarce, AV ewes started to eat grapevine leaves and sprouts needing LiCl reinforcing doses (A, 100%; B, 50% ewes). In conclusion, AV was an effective tool for controlling herbage cover in vineyards during spring. To prevent vineyard damages, permanent monitoring of the flock behaviour and herbage availability are key aspects.

INTRODUCCIÓN

Las cubiertas vegetales son un sistema eficaz de mantenimiento del suelo en los modelos de agricultura sostenible debido a que aumentan la biodiversidad, favorecen la proliferación de los enemigos naturales de las plagas, mejoran la calidad del suelo y reducen la erosión. Además, en el caso del viñedo, contribuyen a obtener rendimientos más equilibrados y a un desarrollo vegetativo más contenido de la viña, lo que favorece la mejor exposición del racimo (Ibáñez *et al.*, 2011). El control de cubiertas vegetales se realiza mediante el uso de tractores y herbicidas, a fin de evitar un exceso de competencia hídrica en el suelo. Hatfield *et al.* (2007a,b) indicaron las ventajas del uso del pastoreo para reducir la biomasa vegetal, la mano de obra, la compactación del suelo y los herbicidas, sin efectos adversos en el perfil de nutrientes del suelo.

Como alternativa respetuosa con el medioambiente, podrían utilizarse rebaños que pastaran entre las líneas de los viñedos. Sin embargo, los pámpanos (hojas de vid) son muy apetecibles para el ganado ovino, lo que desaconseja el pastoreo en este cultivo. Una posible alternativa sería utilizar animales con aversión condicionada a la vid.

La aversión condicionada (AV) a un alimento mediante el empleo de cloruro de litio (LiCl) se considera una herramienta útil para conseguir que los animales aprendan a evitar el consumo de una planta concreta (alimento diana). El único efecto adverso observado después de la administración del LiCl es una ligera disminución del apetito durante los dos días posteriores (Manuelian *et al.*, 2014; 2015). Su eficacia depende de la novedad del alimento diana, del producto y dosis utilizados, de la disponibilidad de alimentos alternativos y de la especie y edad de los animales (Ralphs *et al.*, 2001; Burritt *et al.*, 2013). La capacidad de establecer una correcta y persistente AV depende también del propio animal, con diferencias en el aprendizaje entre individuos y necesidad de una o más dosis (Gorniak *et al.*, 2008), o bien de ser reforzados con mayor frecuencia.

Pocos estudios han realizado un seguimiento de la AV a medio-largo plazo en pequeños rumiantes. Thorhallsdottir *et al.* (1987) consiguieron una aversión parcial en corderos a cebada y pellets durante 60 días, mientras que Burritt y Provenza (1990) y Doran *et al.* (2009) consiguieron aversiones parciales en ovejas durante 9 meses con dosis de refuerzo a una especie de arbusto (*Cercocarpus montanus*) y a hojas de vid respectivamente. El litio administrado por vía oral se excreta completamente en 96 h en ovino y caprino (Manuelian *et al.*, 2015), principalmente por vía urinaria (92%). Por otro lado, la cantidad de litio excretada por vía mamaria (2,8%) en cabras lecheras no es suficiente para crear aversión a las crías (Manuelian *et al.*, 2015). Aunque el litio está ampliamente presente en la corteza terrestre, para evitar

una posible contaminación por litio, es aconsejable esperar entre 9 y 11 d antes de llevar los animales AV al campo (Manuelian *et al.*, 2015).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el uso de la aversión condicionada a la vid en ovino y evaluar su persistencia durante tres años en dos razas de ovejas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la granja experimental del SGCE (Servei de Granges i Camps Experimentals) de la Universidad Autònoma de Barcelona en Bellaterra (Barcelona) y en dos viñedos comerciales localizados en la comarca del Penedès (Barcelona, España). La experiencia se realizó durante tres años (Mayo 2011 a Junio 2013). Los procedimientos experimentales y de seguimiento del bienestar animal durante el estudio fueron aprobados por el Comité de Ética en Experimentación Animal y Humana de la Universidad Autònoma de Barcelona (CEEAH, referencia 770).

- **Animales y manejo.** Se utilizaron un total de 24 ovejas adultas, vacías y secas, de dos razas (Manchega; $n = 12$; $67,5 \pm PV$; Lacaune; $n = 12$; $66,2 \pm PV$) y que no habían consumido previamente hojas de vid. Las ovejas se asignaron a dos grupos equilibrados (seis ovejas/raza) que fueron alimentadas una vez al día con una ración de heno de alfalfa *ad libitum* y a las que se aplicaron los tratamientos experimentales (aversión, AV; control, C).
- **Creación de la aversión condicionada.** El primer día (día cero), dos horas antes de iniciar la creación de la AV, se retiraron los rechazos de heno de alfalfa y las ovejas se individualizaron mediante un cornadizo autoblocante instalado en el comedero del aprisco. Para evitar interferencias entre animales se dejaron 2 plazas vacías entre ellos. No existió contacto visual entre animales de distinto tratamiento. Los pámpanos (100 g/oveja) se ofrecieron en cajas individuales durante 30 minutos y se determinó el consumo por diferencia de peso. Una vez se comprobó que las ovejas habían consumido más de 10 g de pámpanos, se les administró una dosis de 225 mg LiCl/kg PV (2,25% p/v) o 100 mL de agua a los grupos AV y C respectivamente. El LiCl (Panreac, Castellar del Vallés, Barcelona) se disolvió en agua destilada y se dosificó oralmente con pistola desparasitadora de 200 mL (Pimex, Abadiño, Vizcaya). Para evaluar la efectividad de la AV, los siguientes días (días uno a tres) se ofreció a todas las ovejas la misma cantidad de pámpanos durante 30 minutos.
- **Pastoreo en viña simulada.** Los ensayos de viña simulada se realizaron en el SGCE. Para ello se delimitó una parcela de 99 m² (11,0 x 9,0 m) en una pradera de raigrás italiano

© Elena Albanell



Ensayo en viña simulada. a) Grupo aversión. Las ovejas no se acercan a los bastidores y no consumen viña. b) Grupo control. Las ovejas se acercan a los bastidores y consumen prácticamente toda la oferta.

(*Lolium multiflorum* Lam.), donde se colocaron dos líneas de bastidores de madera y postes metálicos (longitud 2,0 m; separación 2,8 m; altura por encima del nivel del suelo 0,7 m). Los pámpanos (2 kg de materia fresca) se fijaron en los bastidores simulando un viñedo en espaldera típico del Penedés. El raigrás estuvo en distintos estadios vegetativos según la estación (mayo a julio y octubre), manteniendo la altura de la hierba en el momento de entrar las ovejas aproximadamente constante (20 cm) durante la experiencia. Se realizaron 12 pruebas de pastoreo en grupo (AV y C) durante 30 minutos en el primer año (días cinco, 11, 19, 27, 33, 40, 46, 55, 62, 68, 150 y 375), evitando el contacto visual entre grupos. El consumo de hojas de vid de cada grupo de ovejas se determinó por diferencia de peso de los bastidores. Los pámpanos (variedad *tempranillo*) utilizados para las pruebas del primer año se obtuvieron de la poda en verde (mayo a julio) y de la vendimia (octubre) de los viñedos experimentales del INCAVI (Institut Català de la Vinya i el Vi,

Espiells, Barcelona, España), almacenándose bajo refrigeración (4 °C) hasta su utilización en los días siguientes (dos-tres días).

- **Pastoreo en viñedo comercial.** En el segundo y tercer año se realizaron ensayos de pastoreo en dos viñedos comerciales. **Viñedo A.** Después del primer año (durante los días 401 a 410 tras la creación de la AV), todas las ovejas AV (n = 12) se llevaron a un viñedo comercial (Caves Gramona, Sant Sadurní d'Anoia, Penedés, Barcelona) para realizar un estudio descriptivo de la AV. Para ello, en una parcela del viñedo (0,25 ha) con la variedad *merlot*, se delimitaron 10 subparcelas de 56 m² (ancho x largo: 2,8 x 20 m) mediante un pastor eléctrico (Lacme Secur, La Fleche, Francia). Cada parcela incluyó la cubierta vegetal de dos pasillos de 2,8 m de ancho y las correspondientes hileras de vides. Las ovejas pastaron tres horas al día cada subparcela durante 10 días seguidos y se suplementaron en el aprisco con

© Elena Albanell



Estado de la cubierta vegetal en el viñedo comercial B. a) Inicio del periodo de pastoreo. b) Final del periodo de pastoreo.

pellets de alfalfa (0,5 kg materia fresca/oveja) y paja de cebada *ad libitum*. El comportamiento de los animales durante el pastoreo se controló con observadores de forma continuada. Las ovejas que consumieron más de 4 bocados de vid se reforzaron con una nueva dosis de LiCl *in situ*. Para no alterar el comportamiento del rebaño, se esperó a finalizar el tiempo de observación, se entró en la parcela y con agilidad se inmovilizó al animal para administrarle la dosis de LiCl. Para determinar el consumo de la vegetación herbácea, se segaron y pesaron cuatro cuadrados al azar (25 × 25 cm) de cada subparcela antes y después del pastoreo. El daño ocasionado por las ovejas en la viña (ramas y racimos rotos, defoliación, consumo de uva) fue evaluado visualmente por un técnico viticultor.

Viñedo B. En la primavera del tercer año (de mediados de mayo a principios de junio), se realizó una nueva prueba de pastoreo en viña, utilizando las seis ovejas AV de raza Lacaune. Para ello, previamente se sometieron a una prueba de validación de la AV en el SGCE, según el protocolo descrito anteriormente. A continuación se llevaron al viñedo (Caves Recaredo, Torrelavit, Penedés, Barcelona) con cubierta espontánea, para realizar un estudio descriptivo. En una parcela (cuatro hectáreas) de la variedad *tempranillo* se delimitaron cuatro subparcelas de 216 m² (ancho × largo: 6 × 36 m) mediante vallas metálicas portátiles (anchura × altura: 3,5 × 2 m). Cada subparcela constó de dos pasillos y una línea central de vides en espaldera. Las ovejas permanecieron en el pasto entre tres y cinco días, según la abundancia de hierba y con acceso libre a agua, durante dos periodos (final de mayo y principio de junio). El comportamiento de las ovejas se controló dos veces al día (por la mañana a las 9:00 y por la tarde a las 5:00). Las ovejas que consumieron pámpanos (más de cuatro bocados) fueron redosificadas con LiCl, de igual forma a lo indicado en el viñedo A. Entre periodos de pastoreo las ovejas volvieron al SGCE para evaluar de nuevo la persistencia de la AV.

Para determinar la biodiversidad de la cubierta vegetal del viñedo antes de la entrada de las ovejas, se calculó el índice de Shannon (Magurran, 1989). En cada subparcela se realizaron tres transectos diagonales con puntos de lectura cada 1,5 m (52 puntos/parcela). Para calcular la biomasa y composición química de la cubierta herbácea antes y después del pastoreo, se segaron en cada subparcela ocho cuadrados de 25 × 25 cm siguiendo dos transectos diagonales. Para no alterar la biomasa de las subparcelas antes del pastoreo, las muestras se tomaron del pasillo adyacente. Un técnico viticultor observó la parcela pastada dos veces al día con la finalidad de detectar vides defoliadas o dañadas.

• **Análisis químico de las muestras.** La materia seca (MS) se determinó a 103 °C durante 24 h, y el contenido en cenizas se midió por gravimetría tras ignición de las muestras en una

mufla a 550 °C durante 4 h (AOAC, 2005). El N se determinó por el método Dumas (AOAC, 2005) utilizando un analizador Leco (Leco Corporation, St. Joseph, Michigan, EEUU) y la proteína bruta se calculó como N × 6,25. La fibra neutro detergente, fibra ácido detergente y lignina se determinaron por el método de Van Soest (1982) con un Ankom Fiber Analyzer Incubator (Ankom Technology, Macedon, Nueva York, EEUU), añadiendo α -amilasa y sodio sulfito.

• **Análisis estadístico.** Los valores de consumo de hojas de vid durante la creación de la aversión y la viña simulada mostraron una distribución no normal, no pudiendo ser normalizados mediante las transformaciones de Box-Cox (Box-Cox y Cox, 1964; Osborne, 2010). Como consecuencia, el efecto del tratamiento AV se analizó utilizando la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, con y sin incluir el efecto de la raza, mediante el programa SPSS v. 19.9.9 de IBM (Chicago, Illinois, EEUU). La significación se estableció a $P < 0,05$.

RESULTADOS

La composición química de las hojas de vid (creación de la aversión y viña simulada), del raigrás italiano (cubierta vegetal de la viña simulada) y de la cubierta vegetal espontánea (viñedo comercial A) se muestran en la Tabla 1.

Componente (%)	Hoja de vid	Raigrás	Cubierta A
Materia seca	20,92	20,02	41,84
Proteína bruta	20,98	20,24	10,10
Fibra bruta	14,88	19,15	27,53
Fibra neutro detergente	29,68	40,40	54,83
Fibra ácido detergente	18,44	21,64	31,32
Lignina	4,26	4,87	4,74
Cenizas	8,56	13,37	9,81

TABLA 1. Composición química de las hojas de vid, raigrás italiano y cubierta vegetal del viñedo A (sobre MS).

TABLE 1. Chemical composition of grapevine leaves, Italian rye-grass and ground cover of commercial A vineyard (DM basis).

Creación y validación de la aversión

A pesar de que los pámpanos eran un alimento nuevo para todas las ovejas, las de raza Lacaune empezaron a consumirlos desde el primer día, mientras que las de raza Manchega necesitaron un día más. Por esta razón, la administración de LiCl se retrasó un día en las Manchegas. El consumo de pámpanos se triplicó (317%) del día cero al uno (29 ± 13 vs. 92 ± 4 g, respectivamente; $P < 0,001$; Figura 1a) en las ovejas Lacaune del grupo C, manteniéndose luego estable. Sin embargo, las ovejas Manchegas del grupo C incrementaron su consumo ($P < 0,05$; Figura 1a) un 163% del día cero al uno (51 ± 17 vs. 71 ± 11 g) y un 131% del día uno al dos (71 ± 11 g vs. 99 ± 1 g).

A partir del día dos no hubo diferencias en el consumo de vid entre los grupos C de ambas razas. Tras la administración de LiCl, todas las ovejas AV se negaron a consumir los pámpanos (día uno; $P < 0,001$; Figura 1a) y rechazaron las cajas de plástico donde se les ofrecían.

Pastoreo en viña simulada

Durante la experiencia en viña simulada las ovejas de ambas razas mostraron comportamiento similar al observado en el aprisco. Las ovejas AV rechazaron consumir los pámpanos ($P < 0,001$; Figura 1b) y apenas se acercaron a los bastidores de viña simulada, mientras que las ovejas C consumieron grandes cantidades de hojas de vid (Figura 1b).

Pastoreo en viñedo comercial

• **Viñedo A.** Antes del pastoreo de la parcela, la oferta de vegetación espontánea de la cubierta fue escasa (206 ± 29 g MS/m²; $42 \pm 3\%$ MS). Aunque no se realizó un estudio exhaustivo de la biodiversidad de la cubierta, las familias y especies predominantes fueron: *Poaceae* (*Avena sterilis*, *Hordeum murinum*, *Setaria viridis* y *Lolium perenne*), *Fabaceae* (*Psoralea bituminosa*), *Apiaceae* (*Foeniculum vulgare* y *Torilis arvensis*), *Asteraceae* (*Chamaemelum nobile*, *Lactuca serriola* y *Pallenis spinosa*), *Convolvulaceae* (*Convolvulus arvensis*) y *Malvaceae* (*Malva sylvestris*).

Todas las ovejas AV mantuvieron la aversión a la vid hasta el día 400 sin necesidad de ser reforzadas. Después de pasar durante un total de 30 horas (tres horas por día durante 10 días), las ovejas AV redujeron la cubierta vegetal entre líneas un $68 \pm 8\%$ (sobre MS). Sin embargo, después del día 403, cuando la cubierta escaseó y presentó mayor lignificación, algunas ovejas empezaron a tomar bocados de los pámpanos (consumo de más de 4 bocados; Tabla 2) y tuvieron que ser redosificadas. Las de raza Lacaune empezaron antes que las de raza Manchega (Tabla 2). Finalmente, el día 408 todas las ovejas habían sido redosificadas, aunque no se detectaron daños de importancia ni en el viñedo ni en los racimos.

• **Viñedo B.** La cubierta vegetal mostró un índice de Shannon homogéneo ($H = 0,96 \pm 0,02$) entre subparcelas, con mayor abundancia de fabáceas que poáceas, tal como se detalla en la Tabla 3. Las especies más frecuentes fueron *Medicago minima* ($19,0 \pm 6,9\%$), *Psoralea bituminosa* ($9,6 \pm 2,1\%$), *Bromus madritensis* ($17,4 \pm 1,8\%$) y *Daucus carota* ($17,1 \pm 3,4\%$). Antes de llevar las ovejas al viñedo, se comprobó que mantenían la aversión. El resultado de la prueba realizada mostró una aversión completa a los pámpanos de las ovejas AV Lacaune (consumo 0 g; Tabla 4; día 710). Sin embargo, tres ovejas tuvieron que ser redosificadas entre periodos de pastoreo y una de ellas fue redosificada en dos ocasiones (Tabla 4).

Oveja	Raza	N.º	Días tras la creación de la aversión									
			401	402	403	404	405	406	407	408	409	410
Lc	1		0	0	1	10*	0	0	0	0	0	0
	2		0	0	0	0	10*	0	0	0	0	0
	3		0	0	0	1	0	11*	0	0	0	0
	4		0	0	0	1	3	0	10*	0	0	0
	5		0	0	0	0	8*	0	0	0	0	0
	6		0	0	7*	0	0	1	0	0	0	0
Mn	7		0	0	0	0	0	0	10*	0	0	0
	8		0	0	0	0	0	0	9*	0	0	0
	9		0	0	0	0	0	0	0	10*	0	0
	10		0	0	1	0	0	0	8*	0	0	0
	11		0	0	0	0	0	0	10*	0	0	0
	12		0	0	0	0	0	0	7*	0	0	0

*Ovejas reforzadas con 225 mg LiCl/kg PV tras consumir más de cuatro bocados de pámpanos.

TABLA 2. Número de bocados de pámpanos y momento de administración de las dosis de refuerzo del LiCl durante el segundo año en el viñedo comercial A (Lc, Lacaune; Mn, Manchega).

TABLE 2. Number of bites of grapevine leaves and day of administration of LiCl reinforcing doses during the second year in the A commercial vineyard (Lc, Lacaune; Mn, Manchega).

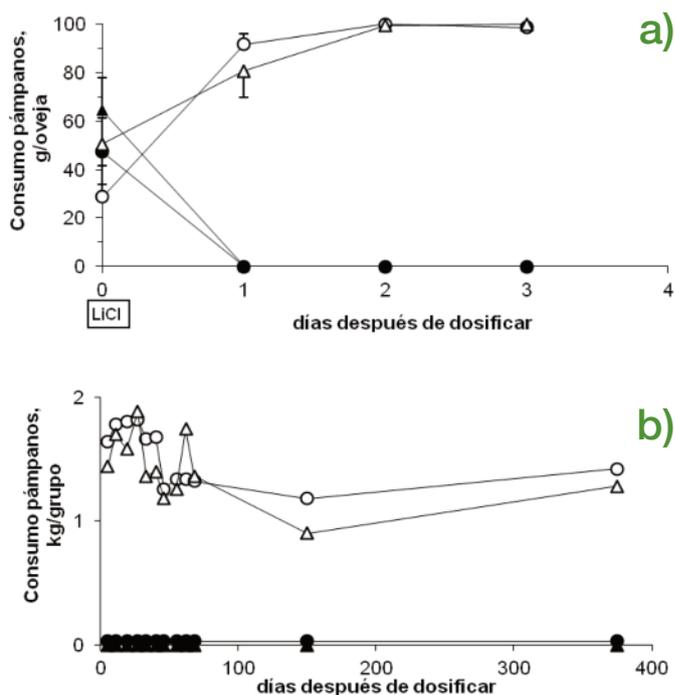


FIGURA 1. a) Intake of grapevine leaves during the conditioned taste aversion induction. The day of LiCl administration is indicated. **b)** Intake of grapevine leaves during the simulated vineyard experiment. (○, Control Lacaune; ●, Aversion Lacaune; △, Control Manchega; ▲, Aversion Manchega)

FIGURE 1. a) Intake of grapevine leaves during the conditioned taste aversion induction. The day of LiCl administration is indicated. **b)** Intake of grapevine leaves during the simulated vineyard experiment. (○, Control Lacaune; ●, Aversion Lacaune; △, Control Manchega; ▲, Aversion Manchega)

	Composición botánica			Biodiversidad
	% Poaceae	% Fabaceae	% Otras	Índice de Shannon ¹
Subparcela 1	22,5	28,3	49,5	2,48
Subparcela 2	24,3	24,4	51,3	2,19
Subparcela 3	14,4	30,6	55,0	2,60
Subparcela 4	17,5	32,5	50,0	2,53
Media	19,7 ± 2,6	29,0 ± 2,0	51,5 ± 1,4	2,44 ± 0,10

¹Según Magurran (1989).

TABLA 3. Composición florística (familias) y diversidad (índice de Shannon) de cada subparcela antes del pastoreo en el viñedo B.

TABLE 3. Botanical composition (family) and biodiversity (Shannon index) of each plot of the B commercial vineyard before grazing.

Oveja N.º	Antes pastoreo	Entre los periodos de pastoreo			
	d 710	d 732	d 733	d 740	d 747
1	0	36*	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	30*
4	0	0	0	0	0
5	0	72*	0	0	30*
6	0	0	0	0	0

*Ovejas reforzadas con 225 mg LiCl/kg PV tras consumir más de 10 g de pámpanos.

TABLA 4. Consumo de pámpanos (g) de las ovejas Lacaune advertidas durante el tercer año en el viñedo comercial B. Momento de administración de las dosis de refuerzo de LiCl durante la prueba de persistencia de aversión antes y entre periodos de pastoreo.

TABLE 4. Intake of grapevine leaves (g) of the conditioned taste averted Lacaune ewes during the third year in the B commercial vineyard. Day of administration of LiCl reinforcing doses during the test of aversion persistence before and between grazing periods.

Como resultado del pastoreo, la cubierta vegetal se redujo un $44,0 \pm 4,0\%$ (sobre MS), quedando en el suelo la parte más fibrosa y menos nutritiva de las plantas, tal como puede observarse en la composición química de los rechazos (Tabla 5). La disposición de los alambres de las espalderas (70 cm por encima del suelo) permitió el paso de las ovejas por debajo de las vides sin dañarlas y que pastaran uniformemente toda la superficie disponible. Aunque las ovejas empezaron a consumir pámpanos el último día de pastoreo en la subparcela 3, ninguna otra subparcela se vio dañada.

Componente	Subparcela 1		Subparcela 2		Subparcela 3		Subparcela 4	
	Oferta	Rechazo	Oferta	Rechazo	Oferta	Rechazo	Oferta	Rechazo
Materia Seca (%)	29,9	45,8	25,0	60,0	28,9	40,1	30,4	37,7
Proteína Bruta (% sobre MS)	10,5	8,1	12,5	6,4	13,8	8,2	8,9	8,4
Fibra Bruta (% sobre MS)	27,9	33,0	28,8	38,5	30,0	35,9	31,4	32,9
Fibra Neutro Detergente (% sobre MS)	51,4	56,5	48,0	65,2	34,9	55,1	50,5	53,5
Fibra Acido Detergente (% sobre MS)	24,6	30,4	29,2	40,8	24,2	35,8	34,0	36,4
Lignina Acido Detergente (% sobre MS)	2,5	3,6	4,5	7,6	4,1	7,6	5,7	6,1
Cenizas (% sobre MS)	8,6	12,3	9,3	8,8	9,5	8,5	8,2	8,7
Reducción disponibilidad de MS (%)	38,3		42,5		54,0		41,0	

TABLA 5. Composición química de la cubierta vegetal de las subparcelas antes y después del pastoreo del viñedo B y reducción de la biomasa aérea de la cubierta pastada.

DISCUSIÓN

Neofobia alimentaria y diferencias entre razas

Como respuesta al empleo de los pámpanos como alimento nuevo, las dos razas (Manchega y Lacaune) expresaron neofobia durante los primeros días de oferta, incrementando de forma gradual su consumo hasta ser finalmente aceptados. Las ovejas de raza Manchega mostraron un mayor grado de neofobia que las de raza Lacaune, necesitando más días para empezar a consumir los pámpanos. El efecto de la raza de oveja en el grado de neofobia alimentaria ha sido descrito previamente por Manuelian *et al.* (2014) en hojas de olivo. Por otro lado, Villalba *et al.* (2009), observaron que la neofobia y el temperamento de los corderos de razas distintas (Rambouillet-Columbia-Finn-Targhee vs. Suffolk) estaban relacionados, sugiriendo la existencia de un componente genético en el comportamiento neofóbico alimentario.

Creación y validación de la aversión condicionada a la vid

La aversión condicionada a la vid se estableció el primer día con una sola dosis de LiCl (225 mg/kg PV), de acuerdo con los resultados obtenidos por Manuelian *et al.* (2010; 2014) en hojas de olivo. Además, la respuesta al LiCl no mostró diferencias según la raza, lo que confirma la idoneidad de la dosis utilizada. No se detectó ningún efecto (disminución de consumo) tras la manipulación de los animales al administrarles el LiCl o agua con la pistola de desparasitar. En la práctica, debido a la variabilidad individual, podría ser conveniente rechazar animales que no establezcan la AV con facilidad.

Aunque se creó la AV utilizando pámpanos de la variedad *tempranillo*, al llevar las ovejas a un viñedo con variedad *merlot* (año dos), se pudo observar que la AV a los pámpanos se mantuvo independientemente de la variedad utilizada. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Ginane y Dumont (2006) quienes observaron que diferentes estados de presentación de la misma especie no afectaban al grado de aversión.

TABLE 5. Chemical composition of the herbaceous vegetation of the commercial vineyard B before and after grazing each plot and reduction in its aerial biomass.

Aversión condicionada a largo plazo en viñedos

Hay pocos estudios que hayan evaluado la persistencia de la AV a largo plazo. En nuestro estudio la AV se mantuvo en la mayoría de las ovejas durante los tres años de ensayo, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Lane *et al.* (1990) y Ralphs (1997) en vacas de carne durante dos a tres años.

Como factor importante de la persistencia de la AV, debe destacarse la disponibilidad y calidad de la cubierta vegetal a pastar a fin de prevenir el consumo del alimento diana, lo que concuerda con lo indicado por otros autores (Burrill y Provenza, 1990; Thorhallsdottir *et al.*, 1990). En el mismo sentido, Ralphs y Cheney (1993) y Thorhallsdottir *et al.* (1987) indicaron que la AV se debilita cada vez que el animal consume el alimento diana sin sufrir efectos negativos post-ingestión. En nuestro caso, los resultados obtenidos indicaron que, en los viñedos comerciales, las ovejas empezaron a consumir pámpanos cuando la cubierta vegetal era escasa.

Restablecimiento de la aversión

La AV se restableció en la mayoría de las ovejas el día después de administrar una dosis de refuerzo, excepto en un caso en el que se debió redosificar aproximadamente un mes más tarde. El grado de AV conseguido con la dosis utilizada (225 mg LiCl/kg PV) fue mayor que el obtenido por Burrill y Provenza (1990) con una dosis de 160 mg LiCl/kg PV. El hecho de que la oveja que necesitó dos dosis de refuerzo en el viñedo B fuese la que aparentemente más viña consumió antes de ser redosificada (72 g en 30 minutos), respalda la idea de que la cantidad de alimento consumido previamente a la administración del LiCl está relacionada con la intensidad y persistencia de la AV (Massei y Cowan, 2002). En las pruebas en los dos viñedos comerciales, las ovejas estaban acostumbradas a la presencia de los observadores, y el manejo para la administración del refuerzo de LiCl no supuso una situación de estrés extra que interfiriera al comportamiento del rebaño.

Por otro lado, no todas las ovejas necesitaron ser redosificadas en el viñedo B (tercer año de la experiencia), lo que podría ser consecuencia de la variabilidad individual para mantener una AV efectiva. Todo ello pone de manifiesto la necesidad de un control sistemático e individualizado del grupo de animales AV durante el pastoreo.

CONCLUSIONES

La aversión condicionada a la vid puede establecerse con éxito con una sola dosis inicial de 225 mg LiCl/kg PV, siendo necesario su refuerzo anual para conseguir mantenerla en años sucesivos. Para evitar que las vides sean consumidas por las

ovejas, resulta clave la gestión de la disponibilidad de la cubierta vegetal, recomendando que siempre dispongan de un alimento apetecible a disposición.

Los resultados obtenidos indican la posibilidad de utilizar rebaños advertidos para el control de las cubiertas vegetales en viñedos, como alternativa sostenible frente al uso de herbicidas y sistemas mecánicos de control. No obstante, se necesita un cierto grado de observación de la conducta alimentaria de los animales y del estado de la superficie vegetal para poder actuar cuanto antes en caso de que se necesite reforzar la aversión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (2005) *Official Methods of Analysis*, 18th ed. Gaithersburg, EEUU. Association of Official Analytical Chemists.
- BOX-COX G.E.P. Y COX D.R. (1964) An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society*, 26, 211-234.
- BURRILL E.A. Y PROVENZA F.D. (1990) Food aversion learning in sheep: persistence of conditioned taste aversions to palatable shrubs (*Cercocarpus montanus* and *Amelanchier alnifolia*). *Journal of Animal Science*, 68, 1003-1007.
- BURRILL E.A., DORAN M. Y STEVENSON M. (2013) Training livestock to avoid specific forage. *Natural Resources*, 1-13.
- DORAN M.P., GEORGE M.R., HARPER J.H., INGRAM R.S., LACA E.A., LARSON S. Y MCGOURTY G.T. (2009) Vines and ovines: using sheep with a trained aversion to grape leaves for spring vineyard floor management. En: *Proceedings of the 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. pp. 325. Wageningen, Países Bajos. Wageningen Academic Publishers,
- GINANE C. Y DUMONT B. (2006) Generalization of conditioned food aversions in grazing sheep and its implications for food categorization. *Behaviour Processes*, 73, 178-186.
- GORNIAK S.L., PFISTER J.A., LANZONIA E.C. Y RASPANTINI E.R. (2008) A note on averting goats to a toxic but palatable plant *Leucaena leucocephala*. *Applied Animal Behaviour Science*, 111, 396-401.
- HATFIELD P.G., LENSSEN A.W., SPEZZANO T.M., BLODGETT S.L., GOOSEY H.B., KOTT R.W. Y MARLOW C.B. (2007a) Incorporating sheep into dryland grain production systems II. Impact on changes in biomass and weed density. *Small Ruminant Research*, 67, 216-221.
- HATFIELD P.G., LENSSEN A.W., SPEZZANO T.M., BLODGETT S.L., GOOSEY H.B., KOTT R.W. Y MARLOW C.B. (2007b) Incorporating sheep into dryland grain production systems III. Impact on changes in soil bulk density and soil nutrient profiles. *Small Ruminant Research*, 67, 222-231.
- IBÁÑEZ S., PÉREZ J.L., PEREGRINA F., CHAVARRI J.B. Y GARCIA-ESCUADERO, E. (2011) Cubiertas vegetales en viñedos. *Cuaderno de Campo* 47, 31-35.
- LANE M.A., RALPHS M.H., OLSEN J.O., PROVENZA F.D. Y PFISTER J.A. (1990) Conditioned taste aversion: potential

- for reducing cattle loss to larkspur. *Journal of Range Management*, 43, 127–131.
- MAGURRAN A.E. (1989) *Diversidad ecológica y su medición*. Barcelona. Ediciones Vedral.
- MANUELIAN C.L., ALBANELL E., ROVAI M., SALAMA A.A.K. Y CAJA G. (2010) Conditioned aversion to olive tree leaves (*Olea europaea* L.) in goats and sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 128, 45-49.
- MANUELIAN C.L., ALBANELL E., ROVAI M., SALAMA A.A.K. Y CAJA, G. (2014) Effect of breed and lithium chloride dose on the conditioned aversion to olive tree leaves (*Olea europaea* L.) of sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 155, 42-48.
- MANUELIAN C.L., ALBANELL E., ROVAI M., CAJA, G. Y GUI-TART, R. (2015) Kinetics of lithium as a lithium chloride dose suitable for conditioned taste aversion in lactating goats and dry sheep. *Journal of Animal Science*. Aceptado (doi:10.2527/jas2014-8223).
- MASSEI G. Y COWAN D.P. (2002) Strength and persistence of conditioned taste aversion in rats: evaluation of 11 potential compounds. *Applied Animal Behaviour Science*, 75, 249-260.
- OSBORNE J.W. (2010) Improving your data transformations: Applying the Box-Cox transformation. *Practica. Assessment, Research & Evaluation*, 15, 2.
- RALPHS M.H. (1997) Persistence of aversions to larkspur in naive and native cattle. *Journal of Range Management*, 50, 367–370.
- RALPHS M.H. Y CHENEY C.D. (1993) Influence of cattle age, lithium chloride dose level and food type in the retention of food aversions. *Journal of Animal Science*, 71, 373–379.
- RALPHS M.H., PROVENZA F.D., PFISTER J.A., GRAHAM D., DUFF D.C. Y GREATHOUSE G. (2001) Conditioned food aversion: from theory to practice. *Rangelands*, 23, 14-18.
- THORHALLSDOTTIR A.G., PROVENZA F.D. Y BALPH D.F. (1987) Food aversion learning in lambs with or without a mother: Discrimination, novelty and persistence. *Applied Animal Behaviour Science*, 18, 327-340.
- THORHALLSDOTTIR A.G., PROVENZA F.D. Y BALPH D.F. (1990) Social influences on conditioned food aversions in sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 25, 45-50.
- VAN SOEST P.J. (1982) *Nutritional ecology of the ruminant*. Ithaca, Nueva York, EEUU. Cornell University Press.
- VILLALBA J.J., MANTECA X. Y PROVENZA F.D. (2009) Relationship between reluctance to eat novel foods and open-field behavior in sheep. *Physiology & Behaviour*, 96, 276–81.