

AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

XIV Jornadas sobre Producción Animal

Tomo II (2011)



www.aida-itea.org

**ASOCIACIÓN
INTERPROFESIONAL PARA EL
DESARROLLO AGRARIO
(AIDA)**

41 JORNADAS DE ESTUDIO

**XIV JORNADAS
SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL**

17 y 18 de mayo de 2011

Zaragoza

TOMO II

COLABORAN:

Gobierno de Aragón

Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Regional

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA)

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria (INIA)

Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos (IAMZ)

Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)



Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

Título:

XIV Jornadas sobre Producción Animal

Edita:

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

Textos:

Autores

Colección:

Congresos y Jornadas

Serie:

Producción Animal

Coordinadores:

Albina Sanz Pascua
Isabel Casasús Pueyo
Margalida Joy Torrens
Javier Álvarez Rodríguez
Jorge H. Calvo Costa
Begoña Panea Doblao
Pilar Muñoz Álvaro
Joaquin Balcells Teres

Secretaria administrativa:

Mercedes Ferruz Andrés

Foto portada:

Javier Álvarez Rodríguez

XIV Jornadas sobre Producción Animal Tomo II	DIRECCIÓN Y REDACCIÓN Montañana, 930 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)	ISBN Obra C. 978-84-615-0062-8 ISBN Tomo II: 978-84-615-0065-9 Depósito legal: Z-1554-2011 Imprime: INO Reproducciones, S.A.
--	--	---

**Prohibida toda reproducción total o parcial sin autorización expresa de la
Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario**

**AIDA no se solidariza necesariamente con las opiniones en los artículos firmados
que publica, cuya responsabilidad corresponde a los autores**

COLABORADORES:



Fondo Europeo
Agrícola de
Desarrollo Rural



Instituto Nacional de Investigación
y Tecnología Agraria y Alimentaria



Instituto Agronómico
Mediterráneo de Zaragoza



PATROCINADORES:

albèitar



ÍNDICE

TOMO II

GENÉTICA

Genética: Genes candidatos

- EVALUACIÓN DEL GEN CANDIDATO PORCINO ACYL-CoA SYNTHETASE LONG-CHAIN 4 PARA CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS. Corominas, J., Ramayo, Y., Castelló, A., Muñoz, M., Ibáñez-Escriche, N., Folch, J.M., Ballester, M. 443
- VALIDACIÓN DE LOS EFECTOS DEL SNP ACACA: c.5634T>C SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN CERDOS IBÉRICOS PUROS Y CRUZADOS CON DUROC. Muñoz, M., Rodríguez, M.C., Fernández, A., Barragán, C., Alves, E., Silió, L. 446
- ANÁLISIS DEL GEN DE LA LEPTINA E INTERACCIÓN CON SU RECEPTOR: ASOCIACIÓN CON CARACTERES PRODUCTIVOS EN CERDO. Pérez-Montarelo, D., López, M.A., Fernández, A., Folch, J.M., Pena, R., Óvilo, C., Rodríguez, C., Fernández, A.I. 449
- CARACTERIZACIÓN DEL GEN RECEPTOR DE LA MELATONINA 1A (MNTR1A) EN LA RAZA OVINA RASA ARAGONESA: ASOCIACIÓN CON LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA. Martínez-Royo, A., Lahoz, B., Alabart, J.L., Folch, J., Calvo, J.H. 452
- IDENTIFICACIÓN DE UN LOCUS PARÁLOGO DEL GEN CD36 CAPRINO CON UN PERFIL DE EXPRESIÓN TRANSCRIPCIONAL COMPLEMENTARIO. Zidi, A., Castelló, A., Jordana, J., Carrizosa, J., Urrutia, B., Serradilla, J.M., Amills, M. 455

Genética: Parámetros genéticos

- ANÁLISIS GENÉTICO MULTICARACTER DEL CRECIMIENTO EN VACUNO PIRENAICO. González-Rodríguez, A., Altarriba, J., Moreno, C., Varona, L. 458
- CURVAS DE LACTACIÓN INDIVIDUALES EN CABRAS MURCIANO GRANADINAS. González-Peña, D., Gómez, E.A., Martínez-Navalón, B., Peris, C. 461
- SELECCIÓN POR CONTENIDO DE OLEICO EN CARNE DE CERDOS DUROC. Reixach, J., Ros, R., Tor, M., Estany, J. 464
- UN MODELO BINOMIAL RECURSIVO PARA LA MORTALIDAD DE LOS LECHONES. Varona, L., Sorensen, D.A. 467
- COMPARACIÓN DE CARACTERES DE CRECIMIENTO EN EL ORIGEN DE CUATRO LÍNEAS MATERNALES DE CONEJO. Mínguez, C., Sánchez, J. P., Ragab, M., Baselga, M. 470
- LONGEVIDAD FUNCIONAL EN UN CRUCE DIALÉLICO ENTRE CUATRO LÍNEAS MATERNALES DE CONEJO. Ragab, M., Sánchez, J.P., Mínguez, C., El Nagar, A.G., Baselga, M. 473
- PARÁMETROS GENÉTICOS DEL PESO AL NACIMIENTO Y DE SU VARIABILIDAD AMBIENTAL EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES. Pun, A., Cervantes, I., Nieto, B., Salgado, C., Pérez-Cabal, M.A., Gutiérrez, J.P. 476

Genética: Pósters

- ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL CROMOSOMA Y EN LAS SEIS RAZAS ASNALES ESPAÑOLAS PARA TRES MARCADORES MICROSATÉLITE. Ferrando, A., Casas, M., Jordana, J. 479
- POSIBLE ORIGEN MATERNO COMÚN DE DOS POBLACIONES DE GALLINAS: RESULTADOS PRELIMINARES DEL ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL. Grimal, A., Viudes de Castro, M.P., Gómez, E.A., Goyache, F., Royo, L.J. 482
- ESTUDIOS GENÉTICOS MEDIANTE MICROSATÉLITES EN EL PAVO OSCENSE. Monteagudo, L.V, Avellanet, R., Tejedor, M.T., Azón, R. 485
- ESTUDIOS GENÉTICOS EN LA GALLINA DEL SOBRABE MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES. Monteagudo, L.V, Avellanet, R., Tejedor, M.T., Azón, R. . . 488
- SELECCIÓN DE MACHOS CON MARCADORES MOLECULARES PARA LA CREACIÓN DE UN BANCO DE SEMEN DE LAS RAZAS OVINAS ARANESA Y XISQUETA Y DE LA CAPRINA BLANCA DE RASQUERA. Ferrando, A., Casas, M., Palomo, M.J., Terré, M., Jordana, J. 491
- ESTIMACIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS PARA LOS CODONES 136, 154 Y 171 DEL GEN PRNP OVINO A PARTIR DE LECHE DE TANQUE MEDIANTE UN PROCEDIMIENTO RT-PCR. Morán, J.A., Álvarez, L., de la Fuente, L.F., Gonzalo, C., San Primitivo, F., Arranz, J.J. 494
- VALIDACIÓN DE GENES DE REFERENCIA NORMALIZADORES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA PARA LA RESPUESTA A ESTRÉS TÉRMICO EN LA ESPECIE OVINA. Serrano, M., González, C., Moreno-Sánchez, N., Marcos-Carcavilla, A., Van Poucke, M., Calvo, J.H., Salces, J., Carabaño, M.J. 497
- ANÁLISIS DEL AJUSTE DE LOS MODELOS LINEAR, LINEAR ASIMÉTRICO Y DE RIESGOS PROPORCIONALES PARA EL INTERVALO ENTRE PARTOS EN LA RAZA OVINA RIPOLLESA. Casellas, J. 500
- VARIANZA GENÉTICA ADITIVA CON ORIGEN PATERNO PARA PESO AL NACIMIENTO EN LA RAZA BRUNA DELS PIRINEUS. Fina, M., Varona, L., Piedrafita, J., Casellas, J. 503
- DESARROLLO EMBRIONARIO A LAS 48 HORAS POST-MONTA EN DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. García, M.L., Giménez, V., Muelas, R., Argente, M.J. 506

Genética: Diversidad genética I

- DEPURACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES MEDIANTE MARCADORES DIAGNÓSTICO. Amador, C., Toro, M.A., Fernández, J. 509
- INFORMACIÓN MOLECULAR VS. INFORMACIÓN GENEALÓGICA EN LA GESTIÓN DE POBLACIONES. De Cara, M.A.R., Fernández J., Toro, M.A., Villanueva, B. 512
- PUERCA ENDOGAMIA. Silió, L., Fernández, A., Martín-Palomino, P., López, M.A. . 515
- INTROGRESION GENETICA DE LAS POBLACIONES DE TRUCHA COMUN EN RELACION A LAS CARACTERISTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL AGUA EN LOS RÍOS ARAGONESES. Mitjana, O., Alabart, J.L., Blasco, J.M., Clavero, J.L., Josa, A., Espinosa, E. 518
- VARIABILIDAD NUCLEOTÍDICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL EN CERDOS CRIOLLOS CUBANOS. Ramayo, Y., Pérez-Pineda, E., Pérez-Enciso, M., Ramos-Onsins, S.E. 521

Genética: Diversidad genética II

- DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS RAZAS DE GALLINAS DEL PROGRAMA DE CONSERVACION DEL INIA. Dávila S.G., Gil, M.G., Resino-Talaván, P., Campo, J.L. 524
- ANÁLISIS DE LA UTILIDAD PARA ESTUDIOS GENÓMICOS DEL “Illumina Ovine SNP50BeadChip” EN RAZAS OVINAS ESPAÑOLAS. Gutiérrez-Gil, B., García-Gámez, E., Suárez-Vega, A., Sánchez, J.P., Kijas, J., Calvo, J.H., International Sheep Genomics Consortium (ISGC), Arranz, J.J. 527
- ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE CUATRO RAZAS OVINAS ESPAÑOLAS MEDIANTE UN CHIP DE SNPs. García-Gámez, E., Gutiérrez-Gil, B., Kijas, J., Calvo, J.H., International Sheep Genomics Consortium (ISGC), Arranz, J.J. 530
- ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD MITOCONDRIAL DE ALPACAS EN NUEVE ZONAS DEL SUR DE PERÚ. Melo, C., Manunza, A., Melo, M., Olivera, L., Amills, M. 533
- CARACTERIZACIÓN DE LA RAZA VACUNA BALADI DEL ALTO EGIPTO MEDIANTE MICROSATÉLITES. Molina-Flores, B., Landi, V., Martínez, A., Delgado, J.V., Galal, S., Abdelaziz, A. 536

Genética: Selección

- CONSIDERACIONES SOBRE EL NIVEL PRODUCTIVO DEL GANADO VACUNO DE CARNE EN ESPAÑA. Jiménez-Montero, J.A., González-Recio, O., Alenda, R. . . 539
- EFECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE EL BIENESTAR DE LA CONEJA. Argente, M.J., García, M.L., Muelas, R., Birlanga, V., Blasco, A. 542
- RESULTADOS DE LAS CUATRO PRIMERAS GENERACIONES DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO. Argente, M.J., García, M.L., Muelas, R., Santacreu, M.A., Blasco, A. 545
- APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO EN SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CONEJO. Zomeño, C., Hernández, P., Juste, V., Blasco, A. 548
- EVALUACIÓN PRELIMINAR DE PROCEDIMIENTOS DE SELECCIÓN GENÓMICA EN UNA POBLACIÓN DE GANADO OVINO LECHERO DE RAZA CHURRA. Sánchez, J.P., García-Gámez, E., Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J. J. 551
- PREDICCIÓN GENÓMICA EN PRESENCIA DE ESTRATIFICACIÓN DE POBLACIONES. González-Recio, O., Forni, S., Gianola, D., Rosa, G.J.M., Weigel, K.A. . . . 554

Genética: Asociación genómica y genética funcional

- ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES DE CRECIMIENTO, CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS . Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Castelló, A., Rodríguez, C., Alves, E., Casellas, J., Noguera, J.L., Díaz, I., Pérez-Enciso, M., Fernández, A.I., Folch, J.M. 557
- DETECCIÓN CLÁSICA DE QTL UTILIZANDO NUEVAS HERRAMIENTAS GENÓMICAS. Fernández, A.I., Alves, E., Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Noguera, J.L., Silió, L., Folch, J.M., Rodríguez, C. 560
- GENÓMICA PARA CLASE TURISTA: UN EJEMPLO EN CERDO IBÉRICO. Rodríguez, M.C., Benítez, R., Alves, E., Fernández, A.I., Ovilo, C., García-Casco J., Silió, L., Barragán, C. 563
- eQTL ASOCIADOS CON LA DEPOSICIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA GRASA EN EL MÚSCULO GLUTEUS MEDIUS PORCINO. Cánovas, A., Pena, RN., Gallardo, D., Amills, M., Quintanilla, R. 566

- ESTUDIO DEL USO DE LOS MARCADORES GENÉTICOS EN UN PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE NELORE A TRAVÉS DE COMPARACIÓN DE MODELOS PARA LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL. Rezende, F.M., Ibáñez-Escriche, N., Ferraz, J.B.S., Eler, J.P., Silva, R.C.G., Mattos, E.C. 569
- ESPECIFICIDAD DE PERFILES TRANSCRIPTÓMICOS PARA DIFERENTES TIPOS MUSCULARES EN BOVINO. Moreno-Sánchez, N., Carabaño, M. J., Rueda, J., Reverter, A., Díaz, C. 572

CALIDAD DE LOS PRODUCTOS

Calidad de los productos: Efecto de la dieta. Vacuno

- EFECTO DE LA ADICIÓN DE SEMILLA DE LINO Y GRASA CLA EN EL PIENSO DE TERNEROS FRISONES SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y EL COLOR DE SU CARNE. Albertí, P., Ripoll, G., Panea, B., Barahona, M., Beriain, M.J., Sarries, V., Realini, C.E. 577
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON DIETAS ENRIQUECIDAS EN ÁCIDOS GRASOS N-3 Y EN CLA EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS CONJUGADOS DE LA CARNE DE TERNEROS FRISONES. Sarriés, M.V., Mendizábal, J.A., Beriain, M. J., Insausti, K., Gómez, I., Sanz, M., Albertí, P., Purroy, A. 580
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SEMILLA ENTERA DE LINO Y CLA PROTEGIDO EN LA DIETA SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE VACUNO. Barahona, M., Campo, M.M., Olleta, J.L., Sañudo, C., Alberti, P., Ripoll, G., Realini, C.E. 583
- EFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y LA EDAD DE SACRIFICIO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS, CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE LA CARNE DE AÑOJOS DE RAZA TUDANCA. Humada, M.J., Cimadevilla, C., Sañudo, C., Dugan, M.E.R., Rolland, D.C., Serrano, E. 586
- EMPLEO DE SOJA O DE LEGUMINOSAS GRANO EN CEBO DE TERNEROS DE AMBOS SEXOS EN PRODUCCIÓN ECOLÓGICA Y SU EFECTO SOBRE LA CALIDAD DE SU CARNE. Cañeque, V., López, O., Pérez, C., Díaz M.T., Ramos, M., Pérez, C., Lauzurica, S., Muíño, I., de la Fuente, J. 589
- EFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICO Y CONVENCIONAL EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA DEL *LONGISSIMUS DORSI* DE TERNEROS. García-Torres, S., Curbelo, P., Osorio, C., López, M.M., Parra, V.y López-Gajardo, A. 592

Calidad de los productos: Efecto de la dieta. Porcino

- EFECTO DE LA ALIMENTACIÓN LÍQUIDA Y DEL SEXO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL, DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CERDOS PESADOS DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN JAMÓN DE TERUEL. Daza, A., Sobreviela, A., Palomo, A., Garcés, C., Cano, J.L., López-Bote, C.J. 595
- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE DISTINTAS GRASAS EN EL PIENSO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE PORCINO. Alonso, V., Provincial, L., Guillén, E., Gil, M., Roncalés, P., Beltrán, J.A. 598
- EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MAGNESIO SOBRE LA VALORACIÓN VISUAL DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO ENVASADA EN ATMÓSFERA MODIFICADA. Alonso, V., Provincial, L., Gil, M., Guillén, E., Roncalés, P., Beltrán, J.A. 601
- INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE BICARBONATO SÓDICO EN EL PIENSO Y AGUA DE BEBIDA SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO. Lizardo, R., Salomó, J., Gispert, M., Esteve-García, E., Brufau, J. 604

Calidad de los productos: Calidad higiénica y nutricional de la leche y del queso

- INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN FOSFÓRICA Y DE LA ESTACIÓN DE PASTOREO SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE VACAS DE RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA. Daza, A., López-Carrasco, C., Rey, A.I., López-Bote C.J. 607
- INCIDENCIA DE LA CONTAMINACIÓN POR ESPORAS BUTÍRICAS EN LA LECHE DE TANQUE DE OVEJA MANCHEGA Y SU RELACIÓN CON LA ALIMENTACIÓN ANIMAL Y LAS CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS DE LA GANADERÍA . Arias, C., Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D., Arias, R. 610
- EFECTO DE LA ÉPOCA DE INICIO DE LACTACIÓN SOBRE EL RECUENTO CELULAR Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE DE CABRA MURCIANO-GRANADINA. Oliete, B., Arias, R., Arias, C., Jiménez, L., Pérez-Guzmán, M.D. 613
- EFECTO DEL USO DE MICROSILOS DE SUBPRODUCTOS DEL MAÍZ EN LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LECHE OVINA MANCHEGA. Jiménez-Sobrino, L., Garzón-Sigler, A., Perea-Muñoz, J.M., García, A., Oliete-Mayorga, B., Arias, R. 616
- IGP QUESO DE TERUEL: ESTUDIO PRELIMINAR DEL PROCESO TECNOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA. Estrada, O., Juan, T., Ariño, A., Estopañán, G. 619

Calidad de los productos: Metodología

- COMPARACION DE UN MÉTODO PARA CUANTIFICACIÓN RÁPIDA DEL ÁCIDO OLEICO EN CARNE DE CERDO RESPECTO A LA CROMATOLOGRAFIA DE GASES. Tor, M., Muñoz, R., Vilaró, F., Eras, J., Estany, J. 622
- DESCRIPCIÓN DEL AROMA DE LA CARNE DE OVINO. Bueno, M., Resconi, V.C., Campo, M.M., Cacho, J., Ferreira, V., Escudero, A. 625
- ESTUDIO DEL EFECTO DEL MÚSCULO, EDAD Y TIPO DE RAZA EN EL COLÁGENO EN LA CARNE DE ETERNEROS MEDIANTE META-ANÁLISIS. Blanco, M., Picard, B., Jurie, C., Agabriel, J., Micol, D., García-Launay, F. 628
- PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN PARA LA MATANZA DEL CERDO. Fàbregas i Comadran, X., Llonch i Obiols, P. 631

Calidad de los productos: Efecto de la dieta. Ovino y caprino

- EFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE CHÍA (*SALVIA HISPANICA L.*) SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS. PRIMEROS RESULTADOS. Mendizabal, J.A, Eguinoa, P., Díaz, J., Arana, A., Maeztu, F., Insausti, K., Sarriés, M. V., Soret, B., Beriain, M. J., Purroy, A. 634
- ENRIQUECIMIENTO EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y OMEGA-3 DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA NAVARRA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE SEMILLA DE LINO Y ALGAS MARINAS. I PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL Y ENGRASAMIENTO. Arana, A., Eguinoa, P., Díaz J., Mendizabal, J.A, Maeztu F., Insausti, K., Soret, B., Beriain, M.J., Purroy, A. 637
- ENRIQUECIMIENTO EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y OMEGA-3 DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA NAVARRA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE SEMILLA DE LINO Y ALGAS MARINAS. II CALIDAD DE LA CARNE: COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS. Insausti, K., Zudaire, G., Sarriés, M.V., Beriain, M.J., Gómez, I., Arana, A., Mendizabal, J.A., Purroy, A. 640
- EFECTOS DE LA INCORPORACIÓN DE PULPA DE TOMATE Y VITAMINA E EN LAS DIETAS DE CEBO DE CORDEROS SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL Y LA CARNE. Cáceres-Nebreda, A., Muñoz-Regalado, B., López-Parra, M.M. 643

- LA INCLUSIÓN DE ACIDO CARNÓSI­CO EN LA DIETA DE CORDEROS DE CEBO RETRASA LA DECOLORACIÓN DE LA CARNE.. Morán, L., Rodríguez-Calleja, J. M., Bodas, R., Prieto, N., Blanco, C. Giráldez, F.J., Andrés, S. 646
- EMPLEO DE ACEITE DE LINAZA EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS: EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE, EL CRECIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE LOS LECHAZOS. Gallardo, B., Manca M.G., Guerra, C., Bodas, R., Mantecón, A.R., Manso, T. 649
- INFLUENCIA DE LA ALIMENTACION Y DE LA LACTANCIA SOBRE EL CONTENIDO EN VITAMINA E Y ACIDOS GRASOS DE LA CARNE DE CORDEROS LIGEROS. Joy, M., Molino, F., Gil, C., Estopañán, G., Álvarez-Rodríguez, J., Blanco, M. . 652

Calidad de los productos: Efecto del manejo. Vacuno

- PARAMETROS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE LA RAZA GASCONNE. Ripoll, G., Albertí, P., Panea, B., Campo, M.M., Guerrero, A., Olleta, J.L., Sañudo, C., Santolaria, P. 655
- COLOR DE LA GRASA SUBCUTÁNEA Y EVOLUCIÓN DEL COLOR DE LA CARNE EN FILM Y EN ATMÓSFERA PROTECTORA DURANTE EL PERIODO DE VENTA DE TERNEROS DE RAZA GASCONNE. Albertí, P., Ripoll, G., Panea, B., Guerrero, A., Santolaria, P. 658
- EFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN PREVIO AL CEBO SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE DE VACUNO. Guerrero, A., Albertí, P., Sañudo, C., Campo, M.M., Olleta, J.L., Panea, B., Ripoll, G., Monge, P., Santolaria, P. . . 661
- EFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN PREVIO AL CEBO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y CALIDAD SENSORIAL DE LA CARNE DE VACUNO. Guerrero, A., Sañudo, C., Albertí, P., Campo, M.M., Olleta, J.L., Resconi, V., Panea, B., Ripoll, G., Santolaria, P. 664
- CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE TERNEROS LECHALES: COMPARACIÓN DE LOS GENOTIPOS LIMUSÍN Y TUDANCA X CHAROLÉS. Jaro­so, R., Lavín, P., Palencia, P., Mantecón, A.R. 667
- EFECTO DE LA EDAD DE CASTRACIÓN Y SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL EN TERNEROS CEBADOS INTENSIVAMENTE. Martí, S., Realini, C.E., Bach, A., Perez-Juan, M., Devant, M. 670
- CANALES DE LA RAZA CACHENA CON ANIMALES DE EDAD INFEROR A 12 MESES. Araújo, A., Cerqueira, J.O.L., Dantas, R., Pires, P., Araújo, J.P. 673

Calidad de los productos: Efecto del manejo. Porcino, ovino y caprino

- EVOLUCIÓN DEL COLOR DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN DE LOS MÚSCULOS *LONGISSIMUS DORSI* Y *SERRATUS VENTRALIS* DE CERDOS IBÉRICOS CRIADOS BAJO DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN. Tejerina, D., García-Torres, S. 676
- RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE HEMBRAS, MACHOS CASTRADOS QUIRURGICAMENTE Y MACHOS INMUNOCASTRADOS PROCEDENTES DE LÍNEAS PATERNAS DUROC Y PIETRAIN. Morales, J.I., Serrano, M.P., Cámara, L., Berrocoso, J.D., López, J.P., Mateos, G.G. 679
- CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE PIEZAS CÁRNICAS DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DO TERUEL. Calvo, S., Rodríguez-Sánchez, J.A., Latorre, M.A. 682
- CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE PIEZAS CÁRNICAS DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DO TERUEL. Calvo, S., Panea, B., Latorre, M.A. 685

- EFECTO DEL PESO DE SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE LA CARNE DE CORDEROS DE RAZA ALCARREÑA. Revilla, I., Lurueña-Martínez, M.A., Palacios, C. 688
- EFECTO DEL PESO DE SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE LA CARNE DE CORDEROS DE RAZA ALCARREÑA. Revilla, I., Lurueña-Martínez, M.A., Palacios, C. 691
- CALIDAD DE CARNE DE CAPRINOS DE “ALTO CAMAQUA” (BRASIL), DE DIFERENTES EDADES. Lemes, J.S., Osório, M.T.M., Osório, J. C.S., Borba, M.F., Macedo, R. F, Martins L., Resconi, V. 694
- CALIDAD DE LA CANAL DE LA RAZA CAPRINA BERMEYA. Monge, P., Lemes, J., Campo, M.M., Muela, E., Guerra, V., Sañudo, C. 697
- INFLUENCIA DE LA RAZA Y EL PESO DE SACRIFICIO O EL SISTEMA DE LACTANCIA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE DE CABRITO. Panea, B., Alcalde, M.J., Ripoll, G., Horcada, A., Teixeira, A., Sañudo, C. 700
- INFLUENCIA DE LA RAZA Y EL PESO DE SACRIFICIO O EL SISTEMA DE LACTANCIA SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE DE CABRITO. Panea, B., Alcalde, M.J., Ripoll, G., Horcada, A., Teixeira, A., Sañudo, C., Olleta, J.L. 703

Calidad de los productos: Otros productos

- CALIDAD DE LOS COMPONENTES DEL 5º CUARTO EN BOVINOS DE RAZA MIRANDESA. Teixeira, A., Paulo, N., Pereira, E., Rodrigues, S. 706
- CALIDAD QUÍMICA DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS. Oliveira, A. F., Rodrigues, S., Pereira, E., Paulos, K., Teixeira, A. 709
- CALIDAD FÍSICA DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS. Paulos, K., Rodrigues, S., Pereira, E., Oliveira, A. F., Teixeira, A. 712
- ANÁLISIS SENSORIAL DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS. Rodrigues, S., Paulos, K., Pereira, E., Oliveira, A. F., Teixeira, A. 715

Calidad de los productos: Factores no productivos

- DIFERENCIAS INTERNAS EN LA CALIDAD DE LA GRASA SUBCUTÁNEA DE CERDO. Zudaire, G., Alfonso, L. 718
- CARACTERIZACIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DEL TORO DE LIDIA. Horcada, A., Polvillo, O., Juárez, M., Valera, M. 721
- ESTIMACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE GRASA DE FALDA DE VACUNO A PARTIR DEL ESTUDIO DE DIFERENTES ZONAS DE LA MISMA. Parra, V., López-Gajardo, A., Tejerina, D., García-Torres, S. 724
- EFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL EN CORDEROS TIPO TERNASCO. Monge P., Muela, E., Olleta, J.L., Campo, M.M., Medel, I., Oliván, A., Sañudo, C., Beltrán, J.A. 727
- EFECTO DEL SISTEMA DE CONGELACIÓN EN CARNE DE CORDERO SOBRE LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL. Muñoz-Regalado, B, Cáceres-Nebreda, A., López-Parra, M.M. 730
- EFECTO DEL TIPO DE ENVASADO EN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDERO PARA DIFERENTES TIEMPOS DE MADURACIÓN. Muela, E., O’Connor, D.I., Sañudo, C., Beltrán, J.A., Allen, P. 733
- EFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN AL MONÓXIDO DE CARBONO EN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDERO MADURADA A VACIO. Muela, E., O’Connor, D.I., Sañudo, C., Beltrán, J.A., Allen, P. 736

- CALIDAD SENSORIAL DE LECHALES DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL. Panea, B., Ripoll, G., Ripoll-Bosch, R., Blasco, I., Falo, F., Joy, M. 739

Calidad de los productos: Pósters

- CARACTERIZACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CATEGORÍA “TERNERA BLANCA” DE TERNEROS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA. Ripoll, G., Casasús, I., Albertí, P., Blanco, M. 742
- RENDIMIENTO COMERCIAL DE LAS CATEGORÍAS TERNERO, AÑOJO Y CEBÓN DE LA RAZA BOVINA SERRANA DE TERUEL. Sanz, A., Ripoll, G., Blasco, I., Álvarez-Rodríguez, J., Albertí, P. 745
- CALIDAD DE LA CARNE DE TERNEROS, AÑOJOS Y CEBONES DE RAZA SERRANA DE TERUEL. Albertí, P., Ripoll, G., Blasco, I., Álvarez-Rodríguez, J., Campo, M.M., Kara, S., Sanz, A. 748
- CALIDAD DE LA CARNE DE TRES CATEGORÍAS COMERCIALES DE RAZA PIRENAICA. Albertí, P., Ripoll, G., Casasús, I., Panea, B., Blanco, M. 751
- CARACTERÍSTICAS AL SACRIFICIO DE CANALES DE “CABRITO TRANSMONTANO. Teixeira, A., Fernandes, B., Rodrigues, S. 754

PATOLOGÍA ANIMAL

Patología animal: Enfermedades parasitarias

- CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA TOXOPLASMOSIS EN CEBADEROS DE PORCINO DE ARAGÓN. Vico, J.P., Mainar-Jaime, R.C. 759
- PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A ANTIHELMÍNTICOS EN GANADERÍAS OVINAS DE ARAGÓN. Calavia, R., Ferrer, L.M., Ramos, J.J., Lacasta, D., Uriarte, J., Calvete, C. 762
- RESPUESTA HUMORAL IgG1 E IgG2 FRENTE *NEOSPORA CANINUM* EN GESTACIONES DE VACAS LECHERAS PURAS Y CRUZADAS. Almería, S., Santolaria, P., Martínez-Bello, D., Nogareda, C., Mezo, M., Gonzalez-Warleta, M., Castro-Hermida, J.A., Yániz, J.L., López-Gatius, F. 765
- ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO TRANSVERSAL DE LA FASCIOSIS EN GANADO VACUNO DEL URUGUAY. Sanchís, J., Miguélez, S., Macchi, M.I., Maldini, G., Piñeiro, P., Venzal, J., Díez-Baños, P., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Arias, M. . . . 768
- FACTORES DE RIESGO DE PARANFISTOMOSIS EN BÓVIDOS DEL URUGUAY. Sanchís, J., Miguélez, S., Macchi, M.I., Maldini, G., Piñeiro, P., Rodríguez, I., Venzal, J., Sánchez-Andrade, R., Suárez, J.L., Paz-Silva, A., Arias, M. 771
- LA APLICACIÓN POUR ON DE IVERMECTINA FACILITA EL CONTROL DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN CABALLOS SALVAJES. Miguélez, S., Arias, M., Francisco, I., Cazapal-Monteiro, C., Cortiñas, F.J., Sánchez, J.A., Mosteiro, D., Suárez, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A. 774
- QUIMIOTERAPIA FRENTE A LA PARANFISTOMOSIS EN VACUNO RUBIA GALLEGA. Piñeiro, P., Suárez, J.L., Vázquez, L., Francisco, I., Dacal, V., Francisco, R., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Morrondo, P., Arias, M. 777
- REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA AL ALBENDAZOL Y CLORSULÓN EN OVINOS INFECTADOS POR *F. HEPÁTICA* RESISTENTES A ESTOS FÁRMACOS. Martínez-Valladares, M., Cordero-Pérez, C., Rojo-Vázquez, F.A. 780

- PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA EN OVINOS DE CASTILLA Y LEÓN NATURALMENTE INFECTADOS POR TRICOSTRONGÍLIDOS. Martínez-Valladares, M., Álvarez-Sánchez, M., Famularo, M.R., Cordero-Pérez, C., Fernández-Pato, N., Castañón-Ordóñez, L., Rojo-Vázquez, F.A. 783

Patología animal: Enfermedades víricas

- IMPACTO DE LA VACUNACIÓN FRENTE A CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 EN CERDAS Y LECHONES SOBRE LOS PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS EN EL PERÍODO DE POST-DESTETE. Fraile, L., Sibila, M., Nofrarías, M., López-Jiménez, R., López-Soria, S., Pérez, D., Eggen, A., Segalés, J. 786
- DETECCIÓN DE LA PRESENCIA DEL VIRUS JSRV EN INTESTINO DELGADO Y NÓDULOS LINFÁTICOS MESENTÉRICOS DE CORDEROS HIJOS DE OVEJAS INFECTADAS. Borobia, M., Ramos, J.J., Ferrer, L.M., García de Jalón, J.A., Ortín, A., de las Heras, M. 789
- ELISAS DE PÉPTIDOS PARA LA DETECCIÓN DE OVINOS SEROPOSITIVOS FRENTE A LENTIVIRUS DE PEQUEÑOS RUMIANTES EN LA ZONA CENTRO NORTE ESPAÑOLA. Ramírez, H., de Andrés, X., Reina, R., San Román, B., Glaría, I., Crespo, H., Jauregui, P., Leginagoikoa, I., Minguijón, E., Juste, R., Salazar, E., Pérez, M.M., Luján, L., Polledo, L., García-Marín, J.F., Riezu, J.I., Borrás, F., de Andrés, D., Amorena, B. 792

Patología animal: Enfermedades bacterianas y otras patologías

- EFICACIA DE UN TRATAMIENTO CON OXITETRACICLINA Y GENTAMICINA FRENTE A LA INFECCIÓN POR *BRUCELLA SUIIS* EN CERDOS. Dieste, L., de Miguel, M.J., Marín, C.M., Barberán, M., Blasco, J.M., Muñoz, P.M. 795
- INFECCIONES SIMULTÁNEAS POR CEPAS DE *SALMONELLA* DE DISTINTOS SEROTIPOS Y PATRONES DE MULTIRRESISTENCIA EN PORCINO DE MATADERO. Garrido, V., San Román, B., Vico, J.P., Sánchez, S., Ciaurriz, P., de Frutos C., Mainar-Jaime, R.C., Grilló, M.J. 798
- DESARROLLO DE UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR PARA LA DETECCIÓN DE *SALMONELLA* EN GANADO PORCINO. Sánchez, S., San Román, B., Garrido, V., Abuelo, A., Asensio, A.C., Vico, J.P., Mainar-Jaime, R.C., Grilló, M.J. 801
- RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE D Y L LACTATO Y EL ESTRÉS OXIDATIVO EN VACUNO LECHERO EN FASE DE TRANSICIÓN: OBSERVACIONES PRELIMINARES. Abuelo, A., Castillo, C., Hernández, J., Pereira, V., García-Vaquero, M.A., López-Alonso, M., Benedito, J.L. 804
- HIPERQUERATOSIS DEL PEZÓN EN VACAS LECHERAS Y SUS EFECTOS. Cerqueira, J.O.L., Araújo, J.P., Cunha, J.P.S., Martins, A., Cantalapiedra, J., Sorensen, J.T., Niza-Ribeiro, J. 807
- ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES DE LA CRÍA DE ABEJAS EN DOS REGIONES DEL NORESTE DE PORTUGAL. Pires, S., Paulos, K., Cadavez, V. 810

JORNADA SATÉLITE: III SIMPOSIO SOBRE MICROBIOLOGÍA DIGESTIVA

Microbiología digestiva: Rumiantes I

- ESTUDIO DE LA POBLACION RUMINAL DE BACTERIAS Y HONGOS MEDIANTE TRFLP Y ARISA: EFECTO DEL NIVEL DEL PROTEINA Y TIPO DE CARBOHIDRATO. Belanche, A., Pinloche, E., Edwards, J.E., Moorby, J.M., Doreau, M., Newbold C.J. 815

- MODIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA DEL RUMEN MEDIANTE ACCIONES DIRECTAS EN EL ANIMAL PRERUMIANTE Y EN SUS MADRES. Abecia, L., Martín-García, A.I., Martínez, G., Molina-Alcaide, E., Newbold, C.J., Yáñez-Ruiz, D.R. 818
- ESTUDIO DEL CRECIMIENTO BACTERIANO DURANTE 24 HORAS DE INCUBACIÓN EN EL SISTEMA ANKOMRF. Martínez, G., Abecia, L., Soto, E., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E., Yáñez-Ruiz, D.R. 821
- EFECTO DEL POLIETILENGLICOL SOBRE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL RUMEN: CULTIVOS *IN VITRO* CON INÓCULO DE OVEJAS ALIMENTADAS SOLO CON FORRAJE O CON UNA DIETA RICA EN CONCENTRADO. Belenguer, A., Hervás, G., Toral, P.G., Fondevila, M., Frutos, P. 824
- EFECTO DE EXTRACTOS DE TANINOS DE DIVERSAS LEGUMINOSAS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS FIBROLÍTICAS *IN VITRO*. Rodríguez, R., Britos, A., Rodríguez-Romero, N., Fondevila, M. 827

Microbiología digestiva: Rumiantes II

- ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DEL RUMEN DE VACAS, OVEJAS Y CABRAS EN PASTOREO. Belenguer, A., Osoro, K., Hervás, G., Toral, P.G., Celaya, R., García, U., Frutos, P. 830
- EVOLUCIÓN POSTPRANDIAL DE LA DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DEL RUMEN DE OVEJAS. Saro, C., Carro, M.D., Ranilla, M.J. 833
- DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA EN LAS FASES LÍQUIDA Y SÓLIDA DE LA DIGESTA DEL RUMEN DE OVEJAS ALIMENTADAS CON DOS DIETAS FORRAJERAS. Saro, C., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 836
- CUANTIFICACIÓN DE PROTOZOOS EN EL FLUIDO RUMINAL MEDIANTE RECUENTO EN CÁMARA Y PCR EN TIEMPO REAL. Saro, C., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 839

Microbiología digestiva: Otras especies I

- EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA CAPACIDAD DE BLOQUEO DE LA ADHESIÓN DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROTOXIGENICA (ECET) K88 AL MUCUS PORCINO POR PARTE DE DIFERENTES INGREDIENTES DIETÉTICOS. González-Ortiz, G., Hermes, R.G., Martín-Orúe, S.M., Pérez, J.F. 842
- EVOLUCIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA TOTAL Y METANOGENICA EN EL PROCESO DE CO-DIGESTION ANAEROBIA DE PURINES DE CERDOS. Seradj, A.R., Morazan, H.J., Álvarez-Rodríguez, J., Babot, D., Hermida, B. Yáñez, D.R., Abecia, L., Balcells, J. 845
- AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DE CALOSTRO DE CERDA E INTESTINO DE LECHONES RECIÉN NACIDOS. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE SUS POSIBILIDADES DE USO COMO PROBIÓTICOS. González-Vega, L.M., Barrios, V., García-Diez M., Naharro, G., Carvajal, A., Rubio, P. 848
- OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE CERDOS COMO CANDIDATOS A PROBIÓTICOS. RESULTADOS PRELIMINARES. Barrios, V., Carvajal, A., Samaniego, L.M., Naharro, G., Mijail, L., Rubio, P. 851
- VALORACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD DE DOS MOLECULAS ORGANOSULFORADAS PROCEDENTES DEL AJO (*ALLIUM SATIVUM*), PTS y PTO, Y SU COMBINACIÓN, FRENTE A *SALMONELLA ENTERICA* Y *ESCHERICHIA COLI*. Arandilla, E., Argüello, H., López, R., Coscojuela, P., Carvajal, A., Rubio, P. 854

Microbiología digestiva: Otras especies II

- SENSIBILIDAD DE *BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE* Y DE *CAMPYLOBACTER SPP.* A MOLÉCULAS DERIVADAS DEL AJO. Hidalgo, A., Carvajal, A., Rubio, P. . . . 857
- EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUIMICA DE LA GALLINAZA Y EL ESTIERCOL DE CONEJO. Ferrer, P., Cambra-López, M., Borrás, M., Cerisuelo, A., Moset, V. 860
- GENOTIPADO DE CEPAS DE *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* EN CONEJOS AFECTADOS POR ENTEROPATÍA EPIZOOTICA. Menoyo, D., García, C., Jarava, M., de Blas, C. 863
- EFECTO DEL NIVEL DE FIBRA SOLUBLE E INSOLUBLE SOBRE EL PERFIL BACTERIANO EN CECOTROFOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO. Rodríguez-Romero, N., Abecia, L., Fondevila, M. 866
- BACTERIAS TOTALES COMO PARTE DEL N ENDÓGENO EN RATAS ALIMENTADAS CON VIGNA UNGUICULATA. Fernández-Fígares, I., Ruiz, R., Kapravelou, G., Porres, J.M., Rubio, L.A. 869

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Abad, M.	338	Amador, C.	509
Abad, R.	201, 294	Amazan, D.	255, 267
Abdelaziz, A.	536	Amenabar, M.E.	73
Abdelfatah-Hassan, A.	353, 356	Amills, M.	455, 533, 566
Abecia, J.A.	341, 359, 380	Aminzadeh, S.	162
Abecia, L.	210, 303, 318, 818, 821, 845, 866	Amores, J.	431
Abuelo, A.	801, 804	Andrés, S.	237, 646
Adell, E.	82	Anel, L.	413
Agabriel, J.	628	Aragonés, I.	261
Agostini, P.S.	31, 258	Arana, A.	640, 634, 637
Aguilera, J.F.	285	Arandilla, E.	854
Ait-Saidi, A.	124	Araújo, A.	673
Alabart, J.L.	127, 130, 347, 452, 518	Araújo, J.P.	52, 55, 88, 673, 807
Albanell, E.	106, 183, 219	Argente, M.J.	506, 542, 545
Albertí, P.	58, 61, 577, 745, 580, 583, 655, 658, 661, 664, 742, 748, 751	Argüello, H.	854
Alcalde, M.J.	700, 703	Arias, C.	610, 613
Alcázar, E.	195	Arias, M.	768, 771, 774, 777
Alegre, B.	338	Arias, R.	610, 613, 616
Alenda, R.	539	Arias-Álvarez, M.	332
Alfonso, L.	261, 718	Ariño, A.	619
Alierta, S.	94, 97	Arís, A.	144, 306
Allen, P.	733, 736	Arranz, J.	222
Almería, S.	353, 356, 765	Arranz, J.J.	494, 527, 530, 551
Alonso, M.E.	70	Arrébola, F.	341
Alonso, V.	598, 601	Arrebola, F.A.	115
Altarriba, J.	458	Arroyo, J.M.	204, 321
Álvarez, L.	494	Asenjo, B.	380
Álvarez, M.	413	Asensio, A.C.	801
Álvarez, S.	109, 112	Avellanet, R.	485, 488
Álvarez-Rodríguez, J.	40, 43, 46, 652, 745, 748, 845	Avilés, M.	368, 395
Álvarez-Sánchez, M.	783	Avilés-López, K.	392
Alves, E.	446, 557, 560, 563	Azón, R.	485, 488
Alves, R.I.M.	52	Babot, D.	34, 40, 43, 46, 845
Alvir, M.R.	204	Bach, A.	135, 141, 670
		Balcells, J.	46, 144, 306, 845
		Ballester, M.	443
		Barahona, M.	577, 583
		Barberán, M.	795

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Barea, R.	285	Borrás, M.	40, 860
Barragán, C.	446, 563	Britos, A.	827
Barrios, V.	848, 851	Broom, D.M.	85
Bartolomé, D.	13, 16	Brufau, J.	604
Bartolomé, D.J.	19, 70	Bueno, F.	13, 16
Baselga, M.	329, 470, 473	Bueno, M.	625
Beamonte, R.	410	Buffoni, A.	380
Belanche, A.	147, 815	Buxadé, C.	168
Belenguer, A.	225, 228, 824, 830	Caballero de la Calle, J.R.	156
Beltrán, J.A.	598, 601, 727, 733, 736	Caballero, J.V.	156
Benedito, J.L.	804	Cáceres-Nebreda, A. ...	643, 730
Benítez, R.	273, 563	Cacho, J.	625
Beriain, M.J.	577, 580, 634, 637, 640	Cadavez, V.	810
Bermejo-Álvarez, P.	377	Caja, G.	106, 124, 216, 219
Bernués, A.	76, 79, 121	Calavia, R.	762
Berrocoso, J.	186, 195	Calle, A.	168
Berrocoso, J.D.	252, 279, 679	Calleja, L.	410
Bichi, E.	225, 228	Callejo, A.	168
Birlanga, V.	542	Calsamiglia, S.	138, 150
Blanch, E.	398, 407, 428	Calvete, C.	762
Blanch, M.	312	Calvo, J.H.	452, 497, 527, 530
Blanco, A.	49	Calvo, S.	682, 685
Blanco, C.	646	Cámara, L.	171, 195, 252, 279, 679
Blanco, M.	58, 61, 628, 652, 742, 751	Cambra-López, M.	82, 860
Blas, E.	291	Campo, J.L.	524
Blasco, A.	542, 545, 548	Campo, M.M.	583, 625, 655, 661, 664, 697, 727, 748
Blasco, I.	76, 79, 118, 739, 745, 748	Cano, J.L.	595
Blasco, J.M.	127, 130, 518, 795	Cánovas, A.	566
Blasco, M.E.	344	Cantalapiedra, J.	55, 88, 807
Bodas, R.	231, 237, 646, 649	Cañeque, V.	589
Boixadera, J.	43	Carabaño, M.J.	497, 572
Borba, M.F.	694	Carabaño, R.	201, 294
Borda, E.	171	Cardozo, P.W.	312
Borobia, M.	789	Carril, J.A.	37
Borrás, F.	792	Carrizosa, J.	455

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Carro, M.D.	207, 309, 312, 315, 324, 833, 836, 839	Cortiñas, F.J.	774
Carvajal, A.	848, 851, 854, 857	Coscojuela, P.	255, 854
Casao, A.	359, 380, 416	Costa, J.P.	52
Casares, L.	407	Coy, P.	368, 371
Casas, M.	479, 491	Crespo, H.	792
Casasús, I.	58, 61, 118, 183, 742, 751	Crespo, J.	144, 306
Casellas, J.	500, 503, 557	Cunha, J.P.	22
Caspio, A.	413	Cunha, J.P.S.	88, 807
Castañón-Ordóñez, L.	783	Curbelo, P.	592
Castelló, A.	443, 455, 557	D., Amorena, B.	792
Castells, Ll.	141	D’Cruz, N.	383
Castillo, C.	804	Dacal, V.	777
Castro-Hermida, J.A.	765	Dantas, R.	52, 673
Catalá, M.G.	365, 374	Dapoza, C.	174
Cazapal-Monteiro, C.	774	Dávila S.G.	524
Cebrian-Perez, J.A.	359, 362, 410, 416	Davin, R.	246
Celaya, R.	830	Daza, A.	49, 595, 607
Cerisuelo, A.	82, 860	de Andrés, D.	792
Cerqueira, J.O.L.	52, 55, 88, 673, 807	de Andrés, X.	792
Cervantes, I.	476	de Blas, C.	863
Cervera, C.	291	de Boer, I.J.M.	121
Chetrit, C.	189	de Cara, M.A.R.	512
Ciaurriz, P.	798	de Frutos, C.	377, 798
Cimadevilla, C.	586	de la Fe, C.	431, 434
Clavero, J.L.	127, 130, 518	de la Fuente, J.	589
Cocero, M.J.	347	de la Fuente, L.F.	494
Colás-Esteban, C.	362	de las Heras, M.	789
Coll, C.	264	de Mercado, E.	198, 249, 282, 398, 401
Colmenar, L.	109, 112	de Miguel, M.J.	795
Congost, S.	118	de Ondiz, A.	395, 431, 434
Cooney, M.	383	de Paz, P.	413
Cordero, G.	267, 270	Delgado, J.V.	536
Cordero-Pérez, C.	780, 783	Delgado, R.	294
Córdova, B.	377	Demmey, J.	335
Corominas, J.	443	Devant, M.	144, 306, 670
Cortés, A.	34	Dias, E.M.	22
		Díaz J.	637
		Díaz M.T.	589
		Díaz, A.	309
		Díaz, C.	572
		Díaz, E.	153, 180

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Díaz, I.	557	Ferrando, A.	479, 491
Díaz, J.	634	Ferraz, J.B.S.	569
Díaz-Royón, F.	204	Ferreira, V.	625
Dieste, L.	795	Ferrer, L.M.	762, 789
Díez-Baños, P.	768	Ferrer, P.	860
Domingo-Sanz, J.	362	Ferret, A.	138, 150
Domínguez, J.C.	338	Figuroa, J.	240, 243, 246
Doreau, M.	147, 815	Fina, M.	503
Dores, J.L.	55	Flamarique Arzoz, A. ...	261
Dugan, M.E.R.	586	Flores, C.	106
Duval, S.	303	Folch, J.	347, 452
Echegoyen, E.	347	Folch, J.M.	443, 449, 557, 560
Edriss, M.A.	177	Fondevila, M.	824, 827, 866
Edwards, J.E.	815	Font, M.	288
Eggen, A.	786	Forcada, F.	341, 359, 380
Eguinoa, P.	634, 637	Forcadell, M.	258
El Nagar, A.G.	473	Forni, S.	554
Eler, J.P.	569	Fraile, L.	786
Eras, J.	622	Francisco, I.	774, 777
Escós, J.	91, 97	Francisco, R.	777
Escribano, A.J.	103	Franco, D.	37
Escribano, M.	103	Frikha, M.	165, 171, 174, 186, 189
Escudero, A.	625	Frutos, P.	225, 228, 824, 830
Espinosa, E.	127, 130, 518	Gadea, J.	389, 392, 431, 434
Estany, J.	464, 622	Galal, S.	536
Esteve-García, E.	288, 604	Gallardo, B.	649
Estopañán, G.	619, 652	Gallardo, D.,	566
Estrada, O.	619	Garcés, C.	595
Fàbregas i Comadran, X.	631	García de Jalón, J.A. ..	789
Falo, F.	118, 739	García, A.	37, 616
Famularo, M.R.	783	García, C.	863
Fantova, E.	344, 416	García, J.	165, 186, 201, 294, 335
Fernandes, B.	754	García, J.J.	16, 19, 70, 13
Fernández, A.	273, 446, 449, 515	García, L.	109, 112
Fernández, A.I.	273, 449, 557, 560, 563	García, M.L.	506, 542, 545
Fernández, C.	234	García, S.	91
Fernández, J.	34, 509, 512	García, U.	830
Fernández, M.	37		
Fernández-Figares, I. ..	159, 192, 869		
Fernández-Pato, N.	783		

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
García-Casco J.	563	González, M.	297
García-Diez, M.	848	González, O.	341
García-Gámez, E.	527, 530, 551	González, R.	338
García-García, R.M.	332	González-Bulnes, A. ...	401
García-Ispierto, I.	353	González-Ortiz, G.	842
García-Launay, F.	628	González-Peña, D.	461
García-Marín, J.F.	792	González-Recio, O.	539, 554
García-Paloma, J.A.	350	González-Rodríguez, A.	458
García-Pareja, M.P.	210	González-Sánchez, E.	276
García-Rebollar, P.	177, 297	González-Valero, L.	192
García-Rodríguez, A.	222	González-Vega, L.M.	848
García-Torres, S.	592, 676, 724	Gonzalez-Warleta, M.	765
García-Vaquero, M.A.	804	Gonzalo, C.	494
García-Vázquez, F.A.	389, 392, 395	Goyache, F.	482
Garrido, A.	300	Grilló, M.J.	798, 801
Garrido, V.	798, 801	Grimal, A.	482
Garzón-Sigler, A.	616	Guerra, C.	649
Gasa, J.	31, 258	Guerra, V.	697
Gaspar, P.	103	Guerrero, A.	655, 658, 661, 664
Gaudioso, V.	70	Guerrero, J.E.	300
Gianola, D.	554	Guevara, J.	321
Gil, C.	652	Guillén, E.	598, 601
Gil, M.	598, 601	Guillén, N.	410
Gil, M.G.	524	Gumbao, D.	389
Giménez, I.	407	Gutiérrez del Alamo, A.	168
Giménez, V.	506	Gutiérrez, J.P.	476
Giráldez, F.J.	231, 237, 646	Gutiérrez-Adán, A.	377
Gispert, M.	288, 604	Gutiérrez-Gil, B.	527, 530, 551
Glaría, I.	792	Hammami, S.	365, 374
Goiri, I.	222	Hamzaoui, S.	106
Gómez, A.	153, 180, 300	Hermes, R.G.	842
Gómez, E.A.	28, 100, 407, 461, 482	Hermida, B.	40, 43, 46, 845
Gómez, I.	580, 640	Hermida, M.	297
Gómez, J.	153, 180	Hernández, J.	804
Gómez-Fernández, J.	282, 198, 249, 398, 401	Hernández, P.	548
Gómez-Izquierdo, E.	198, 249, 282, 398, 401	Hernández-Matamoros, A.	276
Gómez-Martín, A.	431, 434	Hervás, G.	225, 228, 824, 830
González, C.	497	Hidalgo, A.	857
González, J.	204, 321	Hidalgo, C.O.	425

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Hivazad, M.	162	Lahoz, B.	347, 452
Holland, M.	383	Landi, V.	536
Horcada, A.	700, 703, 721	Lara, L.	285
Humada, M.J.	586	Latorre, M.A.	682, 685
Ibáñez, C.	100	Lauzurica, S.	589
Ibáñez, M.	201	Lavara, R.	329
Ibáñez-Escriche, N.	443, 569	Lavín, P.	3, 67, 667
Insausti, K.	580, 634, 637, 640	Laviña, A.	416
International Sheep Genomics Consortium (ISGC)	527, 530	Lázaro, R.	297
Ipharraguerre, I.	135	Lázaro, R.P.	174, 252
Iraira, S.P.	138	Leginagoikoa, I.	792
Irandoust, H.	165, 177, 189	Leite, J.V.	52
Isabel, B.	270	Lemes, J.	697
Izquierdo, D.	365, 374	Lemes, J.S.	694
Izquierdo-Cebrián, M.	276	Liste, G.	85
Jabbour, C.	165, 186	Lizardo, R.	288, 604
Jabour, C.	171	Llobat, L.	329
Jarava, M.	863	Llonch i Obiols, P.	631
Jaroso, R.	67, 667	Lomillos, J.M.	70
Jauregui, P.	792	López, D.	231
Jiménez, L.	613	López, J.P.	279, 679
Jiménez-Montero, J.A.	539	López, M.A.	449, 515
Jiménez-Moreno, E.	174	López, M.C.	234
Jiménez-Sobrino, L.	616	López, M.M.	592
Jordana, J.	455, 479, 491	López, O.	589
Josa, A.	127, 130, 518	López, R.	255, 854
Joy, M.	61, 118, 652, 739	López, S.	231
Juan, T.	619	López-Alonso, M.	804
Juárez, M.	721	López-Bote, C.	273
Jurie, C.	628	López-Bote, C.J.	255, 270, 279, 595, 607
Juste, R.	792	López-Carrasco, C.	607
Juste, V.	548	López-Gajardo, A.	592, 724
Kadivar, M.	177	López-Gatius, F.	353, 356, 765
Kapraavelou, G.	869	López-Jiménez, R.	786
Kara, S.	748	López-Parra, M.M.	643, 730
Kijas, J.	527, 530	López-Soria, S.	786
Kirkden, R. D.	85	Lorenzo, J.M.	37
Kristensen, A.	34	Lorenzo, P.L.	332
Lacasta, D.	762	Loriente, C.	279
Lachica, M.	159, 192	Luján, L.	792
		Luna-Valiente, C.	362

AUTORES	Páginas
Lurueña-Martínez, M.A.	688, 691
Macchi, M.I.	768, 771
Macedo, R.F.	694
Machiavelli, R.	335
Maeztu, F.	634, 637
Mainar-Jaime, R.C.	759, 798, 801
Maldini, G.	768, 771
Manca M.G.	649
Mandalúniz, N.	73, 222
Manso, A.	267
Manso, T.	649
Manteca, X.	138
Mantecón, A.R.	67, 231, 649, 667
Mantecón, Ángel R.	3
Manuelian, C.L.	219
Manunza, A.	533
Manzanilla, E.G.	31, 246
Marco-Jiménez, F.	329
Marcos-Carcavilla, A.	497
María, G.A.	91, 94, 97
Marín, C.M.	795
Maroto, F.	153, 180, 300
Martí, S.	670
Martín-Diana, A.B.	13, 16, 19
Martínez, A.	536
Martínez, B.	100
Martínez, G.	210, 303, 318, 818, 821
Martínez, Y.	3
Martínez-Bello, D.	765
Martínez-Navalón, B.	461
Martínez-Paredes, E.	291
Martínez-Pastor, F.	386, 413
Martínez-Royo, A.	452
Martínez-Valladares, M.	780, 783
Martínez-Vallespín, B.	291
Martín-García, A. I.	210, 213, 303, 318, 818, 821
Martín-Orúe, S.M.	842
Martín-Palomino, P.	273, 515
Martins L.	694
Martins, A.	807

AUTORES	Páginas
Matás, C.	389, 392
Mateos, G.G.	162, 165, 171, 174, 177, 186, 189, 195, 252, 279, 297, 679
Mateos, I.	207, 309, 315
Mateos, J.A.	419
Mattos, E.C.	569
Medel, I.	727
Melo, C.	533
Melo, M.	533
Mendizábal, J.A.	580, 634, 637, 640
Mendoza, N.	416
Menoyo, D.	201, 294, 863
Mercadé, A.	557, 560
Mesías, F.J.	103
Mezo, M.	765
Micol, D.	628
Miguélez, S.	768, 771, 774
Mijail, L.	851
Milán, M.J.	124
Millán, P.	332
Mínguez, C.	470, 473
Minguijón, E.	792
Miranda de la Lama G.C.	91, 94, 97
Mirzaie, S.	162, 165, 186, 189
Mitjana, O.	127, 130, 518
Mocé, E.	398, 404, 407, 428
Mogas, T.	377
Mohiti-Asli, M.	171, 189
Molina-Alcaide, E.	210, 213, 303, 318, 818, 821
Molina-Flores, B.	536
Molino, F.	652
Mondéjar, I.	368
Monge, P.	661, 697, 727
Monteagudo, L.V.	485, 488
Monteserín, E.A.	252

AUTORES	Páginas
Montoro, C.	135
Moorby, J.M.	147, 815
Morales, J.	270
Morales, J.I.	279, 679
Morales-Rodríguez, P.A.	156
Morán, J.A.	494
Morán, L.	237, 646
Morató, R.	377
Morazán, H.	46
Morazan, H.J.	845
Moreno, C.	458
Moreno-Sánchez, N.	497, 572
Morrondo, P.	777
Moset, V.	82, 860
Mosteiro, D.	774
Muela, E.	697, 727, 733, 736
Muelas, R.	506, 542, 545
Muiño R.	422, 425
Muiño, I.	589
Muiño-Blanco, T.	359, 362, 410, 416
Muns, R.	31, 258
Muñoz, M.	443, 446
Muñoz, P.M.	795
Muñoz, R.	622
Muñoz-Regalado, B.	643, 730
Naharro, G.	848, 851
Navarrete, C.	291
Newbold, C.J.	147, 318, 815, 818
Nicodemus, N.	168, 335
Nieto, B.	476
Nieto, R.	285
Niza-Ribeiro, J.	88, 807
Nofrarías, M.	786
Nogales, R.	213
Nogareda, C.	765
Noguera, J.L.	557, 560
Noval, G.	350
Núñez, Y.	273
O'Connor, D.I.	733, 736

AUTORES	Páginas
Olaizola, A.	76, 79
Oliete, B.	610, 613
Oliete-Mayorga, B.	616
Oliván, A.	727
Oliveira, A.F.	709, 712, 715
Olivera, L.	533
Olleta, J.L.	91, 583, 655, 661, 664, 703, 727
Olmedo de la Cruz, S.	198
Olmedo, S.	13, 16, 19
Ortín, A.	789
Osorio, C.	592
Osório, J.C.S.	694
Osório, M.T.M.	694
Osoro, K.	830
Óvilo, C.	273, 449, 563
Palacín, I.	344, 380
Palacios, C.	109, 112, 688, 691
Palencia, P.	67, 667
Palomo, A.	595
Palomo, M.J.	491
Panea, B.	664, 577, 655, 658, 661, 685, 700, 703, 739, 751
Paniagua-Breña, M.	276
Paramio, M.T.	365, 374
Parera, J.	40
Parra, V.	592, 724
Pascual, M.	28
Paulo, N.	706
Paulos, K.	709, 712, 715, 810
Paz-Silva, A.	768, 771, 774, 777
Peinado, J.	264
Peixoto-Junior, W.A.	25
Peláez, J.	338
Pena, R.	449
Pena, RN.	566
Peña y Lillo, P.	34

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Peña, A.I.	422	Quintín, F.	416
Perea-Muñoz, J.M.	616	Quintín-Casorrán, F.J.	344
Pereira, E.	706, 709, 712, 715	Rabal, F.	431, 434
Pereira, V.	804	Ragab, M.	470, 473
Pérez de Ayala, P.	168	Rahmani, H.R.	177
Pérez, C.	589	Ramayo, Y.	443, 521
Pérez, D.	786	Ramayo-Caldas, Y.	557, 560
Pérez, D.C.	300	Ramírez, H.	792
Pérez, J.F.	240, 243, 246, 842	Ramos, J.J.	762, 789
Pérez, M.M.	792	Ramos, M.	589
Pérez, V.	237	Ramos-Morales, E.	303, 318
Pérez-Bonilla, A.	165, 186	Ramos-Onsins, S.E.	521
Pérez-Cabal, M.A.	476	Ranilla, M.J.	309, 312, 207, 210, 303, 315, 324, 833, 836, 839
Pérez-Enciso, M.	521, 557	Realini, C.E.	583, 577, 670
Pérez-Guzmán, M.D.	610, 613	Rebollar, P.G.	332
Perez-Juan, M.	670	Reina, R.	792
Pérez-Montarelo, D.	449	Reixach, J.	464
Perez-Pe, R.	359, 362, 410, 416	Resconi, V.	664, 694
Pérez-Pineda, E.	521	Resconi, V.C.	625
Peris, C.	461, 100	Resino-Talaván, P.	524
Picard, B.	628	Reverter, A.	572
Piedrafita, J.	503	Revilla, I.	688, 691
Pinloche, E.	815	Revilla, R.	3, 118
Piñeiro, C.	267	Rey, A.	267
Piñeiro, P.	768, 771, 777	Rey, A.I.	255, 607
Pires, P.	673	Rezende, F.M.	569
Pires, S.	810	Riezu, J.I.	792
Plà, L.M.	34	Ripoll, G.	58, 61, 577, 583, 655, 658, 661, 664, 700, 703, 739, 742, 745, 748, 751
Polledo, L.	792	Ripoll-Bosch, R.	118, 121, 739
Polvillo, O.	721	Robles, V.	413
Porres, J.M.	869	Roca, X.	216
Posado, R.	16, 13, 19, 70	Ródenas, L.	291
Pourreza, J.	177	Rodrigáñez, J.	273
Prieto, N.	231, 237, 646	Rodrigues, S.	706, 709, 712, 715, 754
Provincial, L.	598, 601		
Pulido, A.F.	103		
Pun, A.	476		
Purroy, A.	580, 634, 637, 640		
Quintanilla, R.	566		

AUTORES	Páginas
Rodríguez, A.	350, 425
Rodríguez, C.	273, 449, 557, 560
Rodríguez, I.	771
Rodríguez, J.D.	201
Rodríguez, L.	13, 16
Rodríguez, M.C.	446, 563
Rodríguez, R.	827
Rodríguez-Calleja, J.M.	646
Rodríguez-López, J.M.	192
Rodríguez-Prado, M. ...	138
Rodríguez-Prado, M.E.	150
Rodríguez-Romero, N.	827, 866
Rodríguez-Sánchez, J.A.	682
Rojo-Vázquez, F.A.	780, 783
Rolland, D.C.	586
Romaguera, R.	365, 374
Román, M.T.	338
Romar, R.	371
Romero-Huelva, M.	213
Roncalés, P.	598, 601
Ros, R.	464
Rosa, G.J.M.	554
Roura, M.	365, 374
Royo, L.J.	482
Rubio, L.A.	869
Rubio, P.	848, 851, 854, 857
Rueda, J.	572
Ruíz de la Torre, J.L. ...	138
Ruiz, R.	73, 869
Ruiz, S.	395
Sakr, O.G.	332
Salama, A.A.K.	106, 124, 219, 216
Salazar, E.	792
Salces, J.	497
Salgado, C.	476
Salomó, J.	604
Samaniego, L.M.	851
Samie, A.H.	177
San Primitivo, F.	494

AUTORES	Páginas
San Román, B.	792, 798, 801
Sánchez, A.	434
Sánchez, J.A.	774
Sánchez, J.L.	195
Sánchez, J.P.	470, 473, 527, 551
Sánchez, M.	264
Sánchez, P.	347
Sánchez, S.	798, 801
Sánchez-Andrade, R. ...	768, 771, 774, 777
Sánchez-Prieto, L.	380
Sánchez-Sánchez, R. ...	401
Sanchís, J.	768, 771
Sansano, S.	407
Santacreu, M.A.	545
Santolaria, P.	344, 419, 655, 658, 661, 664, 765
Santos, R.	180, 153
Sanz, A.	76, 79, 745, 748
Sanz, E.	70
Sanz, M.	580
Sañudo, C.	583, 586, 655, 661, 664, 697, 700, 703, 727, 733, 736
Saro, C.	207, 309, 315, 324, 833, 836, 839
Sarriés, M.V.	580, 634, 640
Sarries, V.	577
Segalés, J.	786
Seradj, A.R.	46, 144, 306, 845
Serradilla, J.M.	153, 180, 455
Serrano, B.	353, 356
Serrano, E.	410, 586
Serrano, M.	497
Serrano, M.P.	162, 195, 252, 279, 297, 679
Serrano, P.	28
Sevilla, E.	416

AUTORES	Páginas	AUTORES	Páginas
Sevilla-Mur, E.	344	Torres, R.	341
Sibila, M.	786	Tous, N.	288
Silió, L.	273, 446, 515, 560, 563	Uc, N.	431
Silva, A.C.de P.	25	Uriarte, J.	353, 762
Silva, R.C.G.	569	Urrutia, B.	455
Silveira, V.C.P.	22, 25, 64	Valandro-Soares, J.C. ..	22, 25
Silveira-Nicoloso, C.	64	Valera, M.	721
Sobreviela, A.	595	Van Poucke, M.	497
Solà-Oriol, D.	31, 240, 243, 246	Varona, L.	458, 467, 503
Sorensen, D.A.	467	Vaz, P.S.	55, 88
Sorensen, J.T.	88, 807	Vázquez, L.	777
Soret, B.	634, 637	Vázquez, M.I.	380
Soto, E.	821	Velasco, B.	332
Soto, E.C.	210	Vellinga, T.	121
Suárez, J.	774	Venzal, J.	329, 768, 771
Suárez, J.L.	771, 777	Vico, J.P.	759, 798, 801
Suárez-Vega, A.	527	Vieira, L.A.	431, 434
Such, X.	106	Viguera, J.	261, 264
Sueiro, S.	297	Vilà, B.	288
Taghouti, M.	335	Vilaró, F.	622
Talaván, A.M.	404	Vílchez-Vivanco, J.A. ..	159
Tamargo, C.	425	Villalba, D.	118
Teira, M.R.	43	Villamide, M.J.	168
Teixeira, A.	700, 703, 706, 709, 712, 715, 754	Villanueva, B.	512
Teixeira, D.L.	91, 94, 97	Villarroel, M.	91
Tejeda-Sereno, J.F.	276	Villegas, J.R.	115
Tejedor, M.T.	485, 488	Vinokurovas, S.L.	240, 243
Tejerina, D.	676, 724	Virgili, J.M.	43
Tejido, M.L.	309, 324	Viudes de Castro, M.P. ..	329, 404, 482
Terré, M.	141, 491	Weigel, K.A.	554
Tomás, C.	198, 249, 282, 398, 401, 407, 428	Yániz, J.L.	344, 419, 765
Tor, M.	464, 622	Yañez, D.R.	845
Toral, P.G.	225, 228, 824, 830	Yañez-Ruiz, D.R.	210, 303, 821, 318, 818
Toro, M.A.	509, 512	Zaghari, M.	162
		Zhao, Y.	82
		Zidi, A.	455
		Zomeño, C.	548
		Zudaire, G.	640, 718

Genética

EVALUACIÓN DEL GEN CANDIDATO PORCINO *ACSL-CoA SYNTHETASE LONG-CHAIN 4* PARA CARACTERES DE CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS

Corominas¹, J., Ramayo, Y., Castelló, A., Muñoz, M., Ibáñez-Escriche, N., Folch, J.M. y Ballester, M.

¹Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Spain. E-mail: Jordi.corominas@uab.es

INTRODUCCIÓN

Las acil-CoA sintetasas de cadena larga (*ACSL*) juegan un papel muy importante en la síntesis de lípidos celulares y en la degradación de ácidos grasos a partir de la β -oxidación. Se han caracterizado cinco isoformas de la familia *ACSL*, las cuales difieren en la preferencia de sustrato, la cinética enzimática, la localización celular y su regulación (Piccini, 1998). La isoforma *ACSL4* codifica para una proteína que utiliza preferencialmente ácido araquidónico y eicosapentaenoico como sustrato. Esta preferencia de sustrato hace que *ACSL4* sea una importante enzima implicada en controlar los niveles de ácido araquidónico, el cual es extremadamente importante en la generación de mediadores lipídicos, como sería el caso de las prostaglandinas i leucotrienos (Cao, 1998). El gen *ACSL4* porcino está localizado muy cerca de un QTL (*Quantitative Trait Loci*) en el SSCX, detectado en un cruce Ibérico x Landrace (IBMAP) y relacionado con el peso vivo y los porcentajes de ácido oleico (C18:1(n-9)) y ácidos grasos monoinsaturados (Mercadé, 2006). Estudios previos en nuestro laboratorio, han evaluado el *ACSL4* como gen candidato posicional para dicho QTL. La secuenciación del ARNm del gen permitió identificar 10 SNPs en la región 3'UTR, segregando en dos haplotipos diferentes en el cruce. El SNP c.2645G>A (DQ144454) fue genotipado en animales del cruce IBMAP y asociado con los porcentajes del ácido oleico y los ácidos grasos monoinsaturados (Mercadé, 2006). El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la implicación funcional del SNP c.2645G>A en el metabolismo de los ácidos grasos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal: para este estudio se utilizaron un total de 120 animales procedentes de un retrocruzamiento de verracos F1 IBMAP con cerdas Landrace (BC1-LD) con diferente genotipo para el polimorfismo *ACSL4* c.2645G>A.

Análisis de expresión del gen *ACSL4*: La extracción de ARN total se obtuvo a partir de muestras de hígado (120 animales) y grasa dorsal (47 animales) utilizando el kit *RiboPure™ Isolation of High Quality Total RNA (Ambion)*. El ADNc fue obtenido utilizando el kit *High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems)*. El análisis de expresión fue realizado mediante PCR cuantitativa a tiempo real (*SYBR green*), utilizando el gen *HPRT1* como gen endógeno. Los *primers* para amplificar el gen *ACSL4* fueron diseñados con el programa *Primer Express*, utilizando la secuencia del *Genbank* NM_001038694: *forward* 5'-GGGACCAAAGGACACATATATCG-3' y *reverse* 5'-GGTCAGAGAGTGTTCAGTGGAGAAG-3'. El resultado final fue analizado con el programa estadístico SPSS, mediante un análisis de varianza (ANOVA).

Genotipado masivo de SNPs: A partir del ADN genómico extraído de muestras de hígado de todos los animales del cruce, se realizó un genotipado masivo mediante el chip *Porcine SNP60 BeadChip (Illumina)*, obteniéndose un total de 54.988 SNPs informativos de todo el genoma para realizar el análisis de asociación.

Análisis de asociación genómico de datos de expresión del gen *ACSL4*: el estudio de asociación de los niveles de expresión del gen *ACSL4* en hígado con los SNPs distribuidos por todo el genoma porcino se hizo con el programa *Qxpak* (Pérez-Enciso y Mistal, 2004). Los modelos asumidos para realizar el análisis, fueron: 1) modelo aditivo sin considerar la dominancia e incluyendo el sexo y el lote como efecto fijo, y 2) modelo aditivo y dominante con los mismos efectos fijos. Los niveles de significación fueron calculados con la librería de *q-values* disponible en R. La anotación de genes se realizó en intervalos de 2 Mb alrededor de los SNPs más significativos, y utilizando el programa *Biomart* (<http://www.ensembl.org/biomart>) con la base de datos disponible: *Ensembl Sscrofa9 Dataset* (www.ensembl.org). Los datos obtenidos de la anotación fueron validados en el *Assembly 10*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras analizar la expresión del gen *ACSL4* en grasa dorsal no se observaron diferencias en los niveles de expresión entre los animales de diferente genotipo del SNP c.2645G>A (Figura 1A). No obstante, el estudio de expresión en hígado reveló un efecto significativo de este genotipo respecto a los niveles de mRNA (p -value < 0.05) (Figura 1B). Los datos obtenidos demuestran que el genotipo AA/A- presenta una expresión menor respecto al genotipo GG/G-, mientras que el genotipo heterocigoto presenta un valor intermedio respecto a los dos homocigotos (Figura 1B).

A pesar de las diferencias significativas observadas en hígado en los diferentes genotipos, la gran variabilidad observada dentro de cada grupo (no mostrado) sugiere la existencia de otros *loci* que afectan a la expresión del gen *ACSL4*. Con el fin de testar esta hipótesis, se realizó un estudio de asociación de los datos de expresión de *ACSL4* y los genotipos de los SNPs de todo el genoma. Los resultados obtenidos confirmaron nuestra hipótesis, se observaron regiones en los SSC2, SSC6, SSC11 y SSC12 (Tabla 1) más significativas a nivel cromosómico que el SNP del gen *ACSL4*. En el SSC2 se identificó una región significativa entre las posiciones 4-9 Mb. La anotación de esta región permitió identificar el gen *ESRRA*, potencialmente interesante debido a su función de regulador transcripcional de genes relacionados con el metabolismo de ácidos grasos. Otros genes relacionados con la β -oxidación de los ácidos grasos fueron encontrados en esta región, hecho que sugiere una posible regulación conjunta con el *ACSL4*. En el SSC6 se obtuvieron resultados relativamente diferentes entre los modelos aditivo y aditivo-dominante. En cada uno aparecieron SNPs significativos en regiones distintas. En el modelo aditivo, se anotó la región englobada entre las posiciones 155-158 Mb y el resultado más interesante fue la aparición del gen *NFYC* que codifica una proteína que forma parte de un complejo que actúa como factor de transcripción en una gran variedad de genes. En el modelo aditivo-dominante, se anotó la región englobada entre las posiciones 121-127 Mb y se observó el gen *ACADM*, el cual es un gen que actúa en los primeros pasos de la β -oxidación y además está relacionado con el *ACSL4*. Esto nos sugiere la posibilidad de una regulación conjunta. La actual anotación del genoma porcino no nos permitió evaluar con exactitud las regiones del SSC11 y SSC12, por este motivo se seguirá trabajando en el estudio de estas regiones, para poder identificar y caracterizar nuevos genes que puedan explicar las diferencias de expresión del gen *ACSL4*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Piccini, M., Vitelli, F., Bruttini, M., Pober, B.R., Jonsson, J.J., Villanova, M., Zollo, M., Borsani, G., Ballabio, A. & Renieri, A. 1998. *Genomics* 47, 350-8. • Cao, Y., Traer, E., Zimmerman, G.A., McIntyre, T.M. & Prescott, S.M. 1998. *Genomics* 49(2):327-30. • Mercadé, A., Estellé, J., Pérez-Enciso, M., Varona, L., Silió, L., Noguera, J.L., Sánchez, A. & Folch, J.M. 2006. *Anim. Genet.* 37, 219-224. • Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20, 2792-8.

Agradecimientos: Al Dr. Jordi Estellé por su ayuda en el estudio de asociación de los SNPs del SSCX. A la Dra. Anna Mercadé por el genotipado del chip de SNPs porcino. Este trabajo ha sido financiado por el MICINN AGL2008-04818-C03/GAN. J. Corominas ha sido financiado con la beca FPI del Ministerio de Educación (BES-2009-018223) y Y. Ramayo con una beca FPU (AP2008-01450).

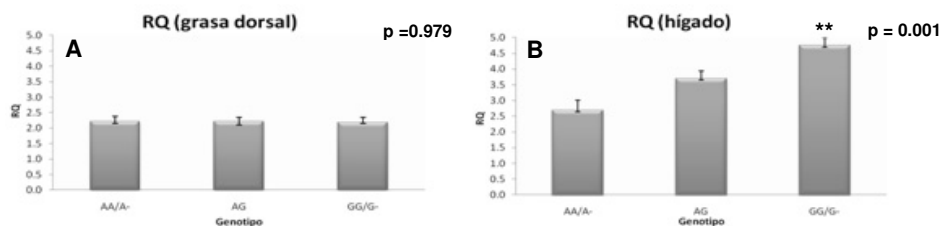


Figura 1. Cuantificación relativa (RQ) de los niveles de ARNm de los diferentes genotipos del polimorfismo c.2645G>A, utilizando: A, muestras de grasa dorsal o B, muestras de hígado. Los datos representan la media \pm SEM. ** significa un p -value inferior a 0,01 respecto al genotipo AA/A-, determinado por ANOVA.

Tabla 1. Genes con relevancia biológica identificados en las regiones asociadas con los niveles de expresión del gen *ACSL4*.

Cromosoma	Posición (Mb)	Gen	Descripción
SSC2	3	CPT1A	carnitine palmitoyltransferase 1A
SSC2	6	ESRRA	estrogen-related receptor alpha
SSC2	9	FADS 1/2/3	fatty acid desaturase 2
SSC6	126	ACADM	acyl-Coenzyme A dehydrogenase
SSC6	157	NFYC	nuclear transcription factor Y

EVALUATION OF PORCINE *ACSL4* GENE AS CANDIDATE GENE FOR MEAT QUALITY TRAITS IN PIGS

ABSTRACT: Long-chain acyl-CoA synthetase (*ACSL*) family members catalyse the formation of long-chain acyl-CoA from fatty acid, ATP and CoA, thus, playing an important role in both *de novo* lipid synthesis and fatty acid catabolism. Previous studies in our group, evaluated the *ACSL4* as a positional candidate gene for a quantitative trait loci located in chromosome X in an Iberian x Landrace cross. A c.2645G>A SNP located in the 3'UTR (DQ144454) was associated with the percentages of oleic and monounsaturated fatty acids. The aim of the present work was to evaluate the functional implication of this genetic variant. An expression analysis was performed in 120 individuals with different genotypes for the c.2645G>A polymorphism using the real-time quantitative PCR (SYBR green) method. Differences between genotypes were identified in liver, being the *ACSL4* mRNA expression levels higher in animals with the A allele than in animals with the G allele. A SNP genome-wide association study with the *ACSL4* relative expression levels showed significant positions on chromosomes 2, 6, 11 and 12. Candidate positional genes for *ACSL4* regulation were found.

Keywords: *ACSL4*, fatty acid metabolism, GWAS, β -oxidation.

VALIDACIÓN DE LOS EFECTOS DEL SNP ACACA: c.5634T>C SOBRE LA COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN CERDOS IBÉRICOS PUROS Y CRUZADOS CON DUROC

Muñoz, M., Rodríguez, M.C., Fernández, A., Barragán, C., Alves., E. y Silió, L.
INIA, Departamento de Mejora Genética Animal, 28040 Madrid.
mariamm@inia.es

INTRODUCCIÓN

La composición de ácidos grasos de las grasas subcutánea e intramuscular tiene un impacto directo en la calidad de la carne de porcino. Cambios en los porcentajes de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) influyen en características tecnológicas como la firmeza, y organolépticas, como el sabor y el olor (Russo y Nani Costa 1995; Ruiz et al., 1999). Asimismo la composición de ácidos grasos afecta a la salud humana, ya que dietas ricas en ácidos grasos saturados incrementan el colesterol en plasma y por tanto incrementan, entre otros el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Lichtenstein, 2006).

En un trabajo previo, realizado en la generación F2 de un cruce Ibérico x Landrace (IBMAP), se detectó un QTL, en el cromosoma SSC12, con efecto sobre los ácidos grasos palmitoleico (C16:1 (n-9)), esteárico (C18:0) y vaccénico (C18:1 (n-7)). Asimismo el gen Acetyl Coenzima-A Carboxilasa α (ACACA) fue testado como gen candidato posicional y funcional, detectándose una asociación muy significativa entre el SNP sinónimo ACACA: c.5634T>C y los ácidos grasos afectados por el QTL (Muñoz et al., 2007). En otro estudio realizado en individuos de las generaciones F3, retrocruce ♂F2 x ♀Landrace y retrocruce ♂F1 x ♀Landrace del IBMAP, se detectó un QTL en el mismo cromosoma con efecto sobre los ácidos grasos mirístico (C14:0) y palmítico (C16:0) medidos en grasa intramuscular. En este caso no se detectó ningún efecto significativo del SNP ACACA: c.5634T>C sobre el porcentaje de ácidos grasos (Muñoz et al., 2010).

Los resultados positivos del análisis de asociación del primer estudio indican que el polimorfismo ACACA: c.5634T>C podría estar en fuerte desequilibrio de ligamiento con la mutación causal. En el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio de asociación de este polimorfismo con el contenido de ácidos grasos en grasa subcutánea e intramuscular en cerdos pesados de dos tipos genéticos (Ibéricos y Duroc x Ibérico) para confirmar los efectos descritos en cerdos de diferentes características genéticas y productivas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron dos ensayos con animales nacidos en una granja privada de cerdos ibéricos, que tras su destete se trasladaron al Centro de Pruebas de Porcino del ITACyL (Hontalbilla, Segovia) hasta su sacrificio en un matadero comercial. Mediante cromatografía de gases, se determinó el perfil de ácidos grasos en grasa intramuscular de muestras de *Longissimus dorsi* y en muestras de grasa subcutánea de la región caudal. Se calcularon los porcentajes de ácidos grasos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) y poliinsaturados (PUFA).

En el ensayo 1 se dispuso de registros y genotipos de 170 cerdos Ibéricos sacrificados en cuatro lotes, aunque en el caso de los registros medidos en grasa intramuscular sólo se dispuso de información medida en 108 animales Ibéricos. Los animales fueron genotipados para seis SNPs detectados en el gen ACACA mediante la plataforma de genotipado descrita en Rodríguez et al. (2010). Cuatro de los SNPs son exónicos y silentes (c.5634T>C; exón 46, c.5715T>C; exón 47, c.6225A>G; exón 51, c.6639A>C; exón 54), y los otros dos, están localizados en intrones (ALGA0066299T>C y g.53840T>C). Para el análisis de asociación se utilizó un modelo animal que, además del efecto poligénico aleatorio, incluía como efectos sistemáticos el lote de sacrificio, los efectos aditivo y dominante del SNP y el peso de la canal. La significación estadística de los efectos del SNP se calculó comparando los modelos completo y reducido mediante la aproximación χ^2 al cociente de verosimilitudes (LR). En el ensayo 2 se dispuso de un total de 117 cerdos Duroc x Ibérico sacrificados en un solo lote,

que fueron genotipados únicamente para el SNP ACACA: c.5634T>C mediante PCR-RFLP, siguiendo el protocolo descrito en Muñoz *et al.* (2007). En el análisis de asociación se utilizó un modelo animal estándar con los efectos sistemáticos, sexo, efectos aditivo y dominante del SNP y como covariable el peso de la canal. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa QxPak v4.0 (Perez-Enciso y Misztal, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1 Ibérico x Ibérico: Las frecuencias alélicas de los seis SNPs genotipados se muestran en la Tabla 1. Cabe destacar que las frecuencias del SNP c.5634T>C en estos animales difieren de lo observado en los parentales Ibéricos del cruce IBMAP, en los que el alelo alternativo C está fijado.

Tabla 1. Frecuencias alélicas de los SNPs del gen ACACA genotipados en 170 cerdos Ibéricos puros

SNP	Alelo 1	Alelo 2
c.5634T>C	0.69	0.31
c.5715T>C	0	1
c.6225A>G	0.35	0.65
c.6639A>C	0.52	0.48
ALGA0066299T>C	0.52	0.48
g.53840T>C	0.34	0.66

En la Tabla 2 se muestran los efectos aditivos significativos de los genotipos ACACA sobre los ácidos grasos en grasa subcutánea e intramuscular. No se encontraron efectos dominantes significativos. En grasa subcutánea, se detectó una asociación significativa entre los polimorfismos c.5634T>C y c.6225A>G y los ácidos grasos butírico (C12:0) y mirístico (C14:0), con similar magnitud de los efectos estimados y pequeñas diferencias en su significación estadística. Por el contrario no se detectó asociación significativa entre ninguno de los SNPs analizados sobre los ácidos grasos C16:1(n-7), C18:0 y C18:1(n-7), para los que, en el cruce IBMAP, se habían detectado efectos del SNP c.5634 T>C. Por otro lado, se detectó un efecto del SNP c.5634T>C sobre el ácido gadoleico (C20:1) medido en grasa intramuscular, a diferencia de lo ocurrido en el cruce IBMAP, en el cual no se detectaron efectos significativos sobre este ácido graso.

Tabla 2. Efectos significativos de polimorfismos del gen ACACA en grasa subcutánea e intramuscular en cerdos Ibéricos y Duroc x Ibéricos

Tipo genético (Tejido)	Acido Graso	Media, %	SNP	a _{SNP} (ES)	LR	P
Ibérico (Subcutánea)	C12:0	0.07	c.5634T>C	0.003 (0.001)	9.96	0.002
			c.6225A>G	0.003 (0.001)	10.53	0.001
	C14:0	1.32	c.5634T>C	0.045 (0.015)	9.60	0.002
			c.6225A>G	0.044 (0.015)	8.92	0.003
Ibérico (Intramuscular)	C20:1	5.18	c.5634T>C	0.510 (0.020)	5.18	0.023
	C16:0	25.51		-0.499 (0.238)	4.23	0.040
	C17:0	0.11		0.006 (0.002)	5.33	0.021
	C17:1	0.13		0.010 (0.004)	5.91	0.015
	C18:0	11.68		-0.375 (0.192)	3.60	0.058
	C18:2 (n-3)	0.09	c.5634T>C	0.236 (0.101)	4.99	0.026
Duroc x Ibérico (Intramuscular)	C18:2 (n-6)	0.25		0.011 (0.005)	4.11	0.043
	C22:5 (n-3)	0.09		0.005 (0.003)	4.02	0.045
	SFA	39.12		-0.887 (0.423)	4.17	0.041
	PUFA	5.59		0.302 (0.133)	4.77	0.029

Ensayo 2 Duroc x Ibérico: Los genotipos del SNP *ACACA*: c.5634T>C presentan frecuencias alélicas intermedias (T = 0.48; C = 0.52) en los animales cruzados Duroc x Ibérico. El análisis de asociación no ha evidenciado efectos significativos del SNP sobre el contenido en grasa subcutánea, y de ningún ácido graso. Sí se detectaron numerosos efectos significativos de este polimorfismo en diferentes ácidos grasos medidos en grasa intramuscular (Tabla 2). Este mismo polimorfismo ha sido genotipado en una población comercial Duroc, aunque no se detectaron efectos significativos de este SNP sobre ácidos grasos, que sí fueron detectados para otros SNPs del gen *ACACA* no presentes en nuestro material (Gallardo et al., 2009).. Los efectos sobre la composición de ácidos grasos del SNP *ACACA*: c.5634T>C estimados en cerdos ibéricos puros y cruzados, y en ambos tejidos, difieren de los previamente detectados en el cruce IBMAP. Ello confirma la hipótesis de que la mutación analizada no es la mutación causal, aunque probablemente está en fuerte desequilibrio de ligamiento con la misma en algunas líneas de cerdo ibérico. Asimismo, este trabajo aporta nuevas evidencias sobre el diferente control genético del metabolismo de ácidos grasos en grasa dorsal subcutánea e intramuscular. Por otra parte, el efecto detectado en dos SNPs del gen, localizados de manera próxima, la extensa longitud del gen *ACACA* y el papel determinante en el metabolismo de ácidos grasos desempeñado por la proteína que codifica (Muñoz et al., 2007), indican que es probable que la mutación causal se encuentre dentro del mismo gen. Para proseguir su búsqueda, actualmente se está desarrollando la detección de polimorfismos en los exones que no se traducen localizados en la región 5'UTR del gen, no caracterizados hasta el momento en porcino.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos FIT-0600000-2006-23 y AGL2007-65563-C02-02/GAN. Agradecemos a María Ángeles López y a Rita Benítez su participación en el procesado de las muestras y extracción de ADN.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lichtenstein, A. H. 2006. *J. Lipid. Res.* 47: 1661-7.
- Gallardo et al. 2009. *Anim. Genet.* 40: 410-417
- Muñoz et al. 2007. *Anim. Genet.* 38: 639-46.
- Muñoz. et al. 2010. 32 Conference of Internat. Soc. Anim. Genet. Edimburgo.
- Perez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20: 2792-8.
- Rodríguez et al., 2010. VII Congreso Internacional de Cerdo Mediterráneo. Córdoba.
- Ruiz et al. 1999. *Meat Sci.* 52: 19-27.
- Russo, V. & Nani Costa, L. 1995. *Pig News and Information* 16: 17N-26N.

VALIDATION OF SNP *ACACA*: c.5634T>C EFFECTS ON FATTY ACID COMPOSITION IN PUREBRED AND CROSSBRED IBERIAN PIGS

ABSTRACT: Fatty acid composition influences fat and meat quality as well as human health. In previous works, two QTLs on SSC12 with different effects on fatty acids of subcutaneous and intramuscular fat was reported in F2 (QTLA, backfat fatty acids), F3 and two backcrosses (QTLB, intramuscular fatty acids) of an experimental Iberian x Landrace cross (IBMAP). Moreover, *ACACA* was tested as functional and positional candidate gene and highly significant association was detected for *ACACA* SNP: c.5634T>C. In the present work genotyping of SNP c.5634T>C was carried out on purebred Iberian and crossbred Duroc x Iberian heavy pigs, in order to verify the analyzed polymorphism effects. Moreover, effects of other *ACACA* polymorphisms were analyzed in the purebred pigs. Significant effects of *ACACA* SNP: c.5634T>C were detected on the percentage of several fatty acids but, the effects differ in both populations, and also are different from those detected in the IBMAP cross in the two analyzed tissues. These results suggest that the polymorphism should be in strong linkage disequilibrium with the causal mutation which could be located into *ACACA* gene and also support the hypothesis of a tissue dependent genetic control underlying fatty acid metabolism.

Keywords: *ACACA*, fatty acids, linkage disequilibrium.

ANÁLISIS DEL GEN DE LA LEPTINA E INTERACCIÓN CON SU RECEPTOR: ASOCIACIÓN CON CARACTERES PRODUCTIVOS EN CERDO.

Pérez-Montarelo, D., López, M.A., Fernández, A., Folch, J.M., Pena, R., Óvilo, C.,
Rodríguez, C. y Fernández, A.I.

Dept. Mejora Genética Animal, INIA, Ctra de la Coruña km 7.5, 28040 Madrid, España.

E-mail: dafne.perez@inia.es

INTRODUCCIÓN

La leptina es una hormona polipeptídica, producida y secretada casi exclusivamente por los adipocitos, que regula la ingesta de alimentos, influenciando el crecimiento, el peso y la composición corporal a través de mecanismos tanto fisiológicos como endocrinos (Barb et al., 2001). En cerdos, la leptina es en una proteína de 167 aminoácidos codificada por el gen *leptin* (*LEP*). El gen *LEP* se localiza en el cromosoma SSC18 y está constituido por dos intrones y tres exones, repartiéndose la región codificante entre los exones 2 y 3 (Bidwell et al., 1997). Estudios previos han mostrado resultados controvertidos respecto a la asociación de polimorfismos del gen *LEP* con caracteres productivos y reproductivos en cerdo (Jiang y Gibson, 1999; Kennes et al., 2001; Pérez-Montarelo et al., 2010). El efecto de esta hormona se debe en gran parte a la interacción con su receptor específico, denominado receptor de leptina (*LEPR*), que es el encargado de transmitir la señalización desencadenada por esta hormona (Thomas, 2004). Recientes trabajos han confirmado el efecto del SNP *LEPR* c.1987C>T sobre crecimiento y deposición grasa en diversas razas porcinas (Óvilo et al., 2010). En el presente estudio se ha analizado la secuencia del gen *LEP* en el material del cruce experimental Ibérico x Landrace con el objetivo de identificar polimorfismos asociados a caracteres productivos y estudiar su interacción con el polimorfismo c.1987C>T del gen *LEPR*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los animales utilizados para la secuenciación del gen *LEP* y para la búsqueda de polimorfismos han sido los parentales del cruce experimental Ibérico x Landrace (IBMAP), cinco hembras Landrace y tres machos Ibéricos. Muestras de ADN de sangre de estos animales fueron extraídas mediante un protocolo estándar fenol: cloroformo. La secuenciación de este gen se ha llevado a cabo utilizando 9 parejas de primers, que han permitido amplificar la práctica totalidad del gen. El genotipado de los polimorfismos identificados se ha realizado en 482 individuos del cruce (parentales, F1 y F2) mediante pirosecuenciación. Los caracteres de crecimiento registrados en la generación F2 del cruce fueron el peso (Kg) más próximo a los 100kg (P100kg), el más próximo a una edad media de 150 días (P150d) y el de la canal (PCanal).

El análisis de asociación se llevó a cabo con el programa QxPak (Pérez-Enciso y Misztal, 2004) utilizando un modelo animal donde, además de los efectos poligénicos aleatorios, se incluyeron como efectos fijos el sexo y el lote, los efectos aditivo, dominante de los SNPs de ambos genes y su interacción y la edad de sacrificio como covariable. Adicionalmente, se ha mapeado el gen *LEP* utilizando el programa CRIMAP, haciendo uso de la información de genotipado de tres microsatélites (*S0120*, *SW787* y *SW1023*) y uno de los SNPs identificados en el gen.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La comparación de las secuencias del gen *LEP* en ocho parentales del cruce Ibérico x Landrace ha permitido identificar un total de 35 SNPs y cuatro indels, de los que no habían sido identificados previamente 33 SNPs y las cuatro indels. La mayoría de los polimorfismos se localizan en regiones intrónicas excepto el SNP29 que se encuentra en el tercer exón del gen (Figura 1).

Se seleccionaron para su genotipado en los animales del cruce IBMAP aquellos polimorfismos que parecían más informativos, que además representaban tres grupos de SNPs ligados, estos fueron el SNP 7 C>T (*LEP7*), SNP10 A>G (*LEP10*) y SNP44 C>T (*LEP44*). Sin embargo, no se ha podido analizar el *LEP44* debido a problemas técnicos de genotipado. El protocolo del *LEP7* permitió el genotipado simultáneo de los SNPs *LEP6* y

LEP7, apareciendo ambos totalmente ligados en la población. Las frecuencias en la F2 para los SNPs genotipados fueron 0.41 para el alelo *LEP7C* y 0.12 para el alelo *LEP10A*.

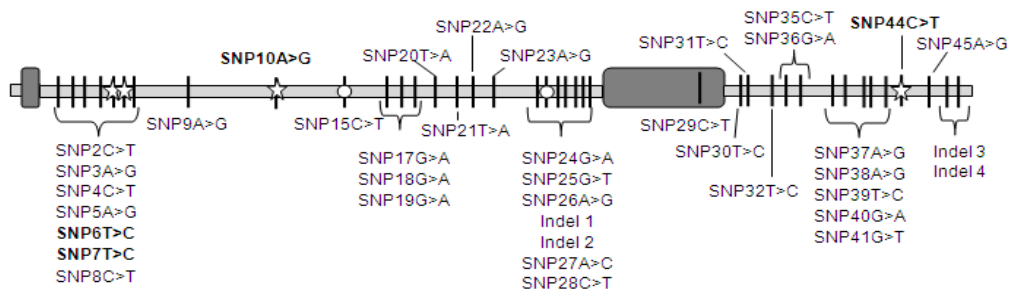


Figura 1. Esquema del fragmento del gen *LEP* porcino secuenciado. En gris oscuro se representan los exones 2 y 3, en gris claro los intrones, los círculos representan polimorfismos anteriormente descritos y las estrellas marcan los polimorfismos seleccionados para su genotipado.

Los análisis de asociación llevados a cabo no han permitido detectar asociación del polimorfismo *LEP10* con ninguno de los caracteres analizados. Sin embargo, si se han encontrado asociaciones significativas del SNP *LEP7* con los caracteres de crecimiento analizados (Tabla 1). Los efectos detectados fueron aditivos, de forma que el alelo T del SNP *LEP7*, fijado en Ibérico, tendría un efecto negativo sobre el peso próximo a 100 kg y sobre el peso de la canal, con magnitudes superiores a 2,2 y 1,7 kg, respectivamente. La interacción de los efectos aditivos de *LEP7* y *LEPR* c.1987C>T no resultó significativa para ninguno de los tres caracteres de crecimiento.

Tabla 1. Resultados del análisis de asociación de los polimorfismos *LEPR* c.1987C>T, *LEP7* y de su interacción con el peso próximo a una edad media de 150 días (*P150d*), peso más próximo a 100 kg (*P100kg*) y peso de la canal (*PCanal*).

Caracter	Media (SD)	a_{LEPR} (SE)	<i>P</i>	a_{LEP} (SE)	<i>P</i>	<i>axa</i> (SE)	<i>P</i>
<i>P150d</i>	86,10 (11,12)	-2,33 (1,02)	0,022	-1,75 (0,95)	0,066	-1,18 (1,40)	0,392
<i>P100kg</i>	100,62 (12,93)	-3,01 (0,84)	$4,1 \times 10^{-4}$	-2,26 (0,84)	0,007	-1,05 (1,13)	0,349
<i>PCanal</i>	74,67 (10,05)	-2,01 (0,67)	0,003	-1,74 (0,67)	0,009	0,42 (0,89)	0,632

En un análisis complementario, se compararon los efectos sobre crecimiento de las combinaciones de los genotipos para los dos SNPs *LEPR* c.1987C>T y *LEP7*. Los resultados de este análisis confirman de forma más gráfica, el efecto significativo y puramente aditivo de ambos polimorfismos sobre estos caracteres (Figura 2). Los animales portadores en homocigosis de los alelos T para ambos polimorfismos muestran un efecto mayor sobre *P100kg* y *PCanal* que los individuos heterocigotos, y éstos a su vez un efecto mayor que los homocigotos para los alelos alternativos.

Por otro lado, el análisis del efecto del polimorfismo *LEP7* y de su interacción con *LEPR* c.1987C>T sobre caracteres de conformación y deposición grasa también muestran asociaciones significativas, más complejas de interpretar (dominancia y/o epistasia) que están siendo evaluadas a partir de un número más amplio de animales genotipados.

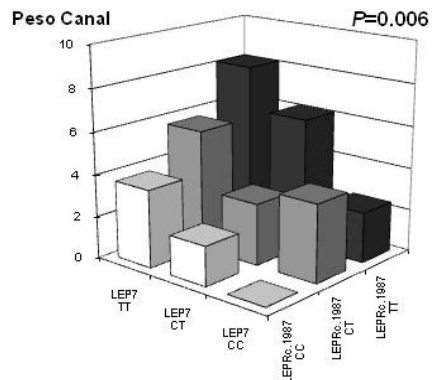
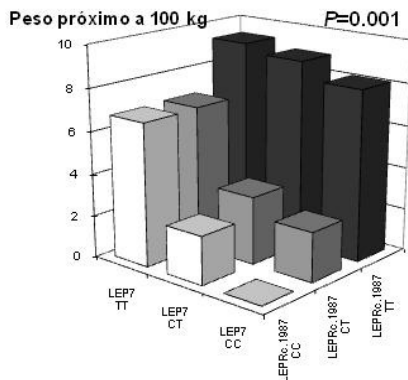


Figura 2: Efecto sobre el peso más próximo a 100kg y el peso de la canal de los genotipos para los polimorfismos *LEP7* y *LEPR* c.1987C>T en animales IbmAP.

En estudios previos sobre este material animal no se había detectado ningún QTL en el cromosoma SSC18, donde se ha confirmado la localización del gen *LEP* mediante mapeo de ligamiento (*SW120* (0 cM) – *SW787* (13,7 cM) – *LEP* (21,2 cM) – *S01023* (37,4 cM)). Sin embargo, los resultados de este trabajo muestran efectos significativos del gen *LEP* sobre los caracteres analizados y más aún, parece existir una interacción con el gen *LEPR* con efectos relevantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barb, C.R., Hausman, G.J. & Housecknecht K.L. 2001. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 297-317.
- Bidwell, C.A., Ji, S., Frank, G.R., Cornelius, S.G, Willis G.M. & Spurlock, M.E. 1997. *Anim. Biotechnol* 8: 191-206.
- Jiang, Z-H. & Gibson J.P. 1999. *Mamm. Gen.* 10: 191-193.
- Kennes, Y.M., Murphy, B.D., Pothier, F. & Palin M-F. 2001. *Anim. Genet.* 32: 215-218.
- Ovílo, C., Fernández A., Fernández, A.I., Folch, J.M., Varona, L., Benítez, R., Nuñez, Y., Rodríguez, M.C. & Silió, L. 2010. *Mamm Gen.* 21: 583-591.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I. *Bioinform.* 20: 2792-2798.
- Pérez-Montarelo et al. 2010. XV Reunión Nacional de Mejora Genética Animal., Vigo 16-18 Junio.
- Thomas, T. 2004. *Curr. Opin Pharmacol.* 4:2 95-300.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICINN AGL2008-04818-C03. Dafne Pérez-Montarelo disfruta de una beca FPI del Ministerio de Ciencia e Innovación (BES-2009-025417).

LEPTIN GENE ANALYSIS AND INTERACTION WITH ITS RECEPTOR: ASSOCIATION WITH PRODUCTIVE TRAITS IN PIG

ABSTRACT: Leptin, the product of the *LEP* gene, is a hormone that interacts with the leptin receptor (LEPR) and that acts as a signal of satiety affecting feed intake, energetic balance and body composition. The aim of this study was the analysis of *LEP* sequence variability and the polymorphism associations with growth traits in the experimental cross Iberian x Landrace (IbmAP). Moreover, interaction of *LEP* and *LEPR* was also investigated. The sequencing of the *LEP* gene in the parental generation of the IbmAP material revealed 35 SNPs and 4 indels, mostly located in intronic regions. Three SNPs (*LEP7*, *LEP10* and *LEP44*) were selected for the analyses. The results showed significant additive effects for *LEP7* SNP on the traits: weight near to 100kg and carcass weight. In addition, significant additive effects of the genotypes of both *LEP7* and *LEPR*c.1987C>T were also investigated. Finally, complex effects of *LEP7* and the interaction *LEP-LEPR* on other productive traits are under study.

Keywords: leptin, productive traits, leptin receptor, pig

CARACTERIZACIÓN DEL GEN RECEPTOR DE LA MELATONINA 1A (*MTNR1A*) EN LA RAZA OVINA RASA ARAGONESA: ASOCIACIÓN CON LA ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA.

Martinez-Royo, A., Lahoz, B., Alabart, J.L., Folch, J. y Calvo, J.H.

¹Unidad de Tecnología en Producción animal. CITA. 59059. Zaragoza.
amartinezroyo@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Para aumentar la rentabilidad de las explotaciones ovinas y facilitar la comercialización de la carne es necesario homogenizar la producción y por tanto los precios de venta de los corderos a lo largo del año. En este sentido, los partos en la raza Rasa Aragonesa en condiciones naturales se producen principalmente en invierno-primavera. Como consecuencia de esta estacionalidad reproductiva, se produce una mayor oferta del producto de Marzo a Septiembre, estableciéndose un precio de mercado relativamente bajo. Del mismo modo, se origina una disminución de la oferta de septiembre a febrero, que eleva los precios, de venta. Esta paradoja en el mercado, está tratando de resolverse en las explotaciones ganaderas mediante el uso de tratamientos hormonales de inducción del celo (esponjas de progestágeno + eCG), o con la utilización de implantes de melatonina. Sin embargo la UE limita de forma creciente el uso de productos hormonales en la producción animal. De hecho, ya prohíbe su uso de estos tratamientos en las ganaderías ecológicas. Una alternativa para homogenizar la producción de corderos a lo largo del año, es el uso de estrategias que nos permitan detectar genes asociados a la estacionalidad reproductiva. Del abanico de genes relacionados con la actividad reproductiva estacional se ha propuesto repetidamente en ovino el gen candidato del receptor de la melatonina subtipo 1A (*MNTR1A*). Desempeña un papel clave en el control de la estacionalidad inducida por el fotoperíodo, ya que está mediado por los niveles circadianos de la hormona melatonina. En diferentes estudios se han encontrado dos mutaciones silentes (SNP606 y 612) asociadas a caracteres de estacionalidad y que estaban en desequilibrio de ligamiento con posibles polimorfismos en una región cercana (Pelletier et al.2000; Chu et al., 2003; Mura et al., 2009; Mateescu et al., 2009) en diferentes razas ovinas.

En el presente trabajo se ha llevado a cabo la detección y caracterización de polimorfismos en la región promotora y zona codante del gen *MTNR1A*, y se ha evaluado la asociación de este gen a la estacionalidad reproductiva en ovejas de la raza Rasa Aragonesa.

MATERIAL Y MÉTODOS

La elección de animales que se secuenciaron para la búsqueda de nuevas mutaciones se llevó a cabo eligiendo animales extremos para el carácter prolificidad según su VG (N=5); y animales extremos para el carácter ciclicidad fuera de estación reproductiva, pertenecientes a un diseño familiar de medio-hermanas (N=6, 2 ovejas de cada familia). Los cebadores fueron diseñados a partir de la secuencia Genbank núm. NM_001009725 y AF078545, para las zonas exónicas del gen *MTNR1A* y para la región promotora, respectivamente.

Para los estudios de asociación se utilizaron un total de 80 ovejas pertenecientes a tres familias de medio-hermanas con 26, 25 y 29 animales por familia que se han representado por los machos A, B y C, respectivamente. Todas las ovejas presentaron la misma edad, condición corporal, y mismas condiciones de manejo y alimentación. Como medida de estacionalidad, se procedió a la recogida de datos sobre la detección de celos en período de anestro estacional en nuestras condiciones de explotación. Para este fin, se observó diariamente la aparición de celos en el lote de las 80 ovejas desde enero hasta agosto de 2009, utilizando cuatro carneros vasectomizados provistos de arneses con pastillas marcadoras. Para no confundir las marcas se cambió el color del marcador de los arneses cada 2 semanas,.

Para los estudios de asociación del gen *MNTR1A* con estacionalidad se amplificó un fragmento del exón 2, que contiene los SNPs C/T y G/A en las posiciones 606 y 612, respectivamente, de la secuencia de referencia U14109, y que se genotiparon mediante digestión con enzimas de restricción *RsaI* y *MnlI*, respectivamente. Debido a que en la región promotora del gen *MTNR1A* se encontraron numerosos SNPs, se puso a punto una

PCR que abarcara estos polimorfismos para posteriormente enviar los fragmentos a secuenciar.

La clasificación en ovejas cíclicas y no cíclicas para un mes determinado se codificó como variable dicotómica "1" y "0", respectivamente. Todas las ovejas, excepto una que fue excluida del estudio, presentaron al menos un celo en los meses de enero y agosto. El porcentaje de ovejas cíclicas entre Febrero y Julio de 2009 se analizó mediante un modelo lineal generalizado para variables categóricas (dicotómicas) con medidas repetidas mediante el procedimiento CATMOD del paquete estadístico SAS. El modelo utilizado fue el siguiente: $FC_{ik} = \mu + Gen_i + Mes_k + (G \times M)_{ik}$, donde FC_{ik} es la frecuencia de ovejas cíclicas en el genotipo (i) y el mes (k); μ es la media general del porcentaje de ciclicidad del total de las ovejas; Gen_i es el efecto del genotipo (i) anidado al macho (9 niveles: tres genotipos posibles en 3 familias de medio hermanas); Mes_k es el efecto del factor Mes, tratado como medida repetida de la variable dicotómica cíclica/no cíclica (1/0) en los 6 meses de ensayo (6 niveles: Febrero, Marzo, Abril, Mayo, Junio y Julio); $(G \times M)_{ik}$ es el efecto de la interacción Genotipo x Mes (54 niveles).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como resultado de la búsqueda de la secuencia codante del gen, se encontraron un total de 11 mutaciones tipo SNP de las cuales 7 eran sinónimas, 2 conservativas y 2 no conservativas sin efecto sobre la conformación de la proteína. Cuatro de ellas no habían sido descritas previamente en otras razas y ocupan las posiciones 363, 383, 385 y 423 según la secuencia depositada en GenBank U14109. Dos de ellas son silentes sin cambio de aminoácido, otra es conservativa con cambio de Serina por Asparagina (S112N), y la última es no conservativa con cambio de Serina por Prolina (S113P). Todas las mutaciones encontradas en la secuencia aminoacídica fueron analizadas con el programa Polyphen (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>) para la predicción de sus posibles efectos sobre la función o la estructura de la proteína, no encontrando mutaciones potencialmente dañinas. Igualmente se han encontrado en Rasa Aragonesa los dos SNPs silentes, que a pesar de ser sinónimos han demostrado asociación a estacionalidad reproductiva en otras razas (SNP606 y 612) (Pelletier et al., 2000). Los tres machos fueron heterocigotos para los dos SNPs. Los estudios de asociación mostraron un efecto significativo del genotipo del SNP606 anidado al macho para el carácter estacionalidad/ciclicidad reproductiva. En promedio, el porcentaje de ovejas cíclicas fue un 21.9% mayor en las homocigotas TT que en las CC (77.5 vs 55.6%, $p < 0.01$, Tabla 1). Las ovejas heterocigotas (grupo CT) mostraron valores intermedios (67.1%), sin significación estadística respecto a los genotipos TT o CC. Dentro de las tres familias, se observó la misma tendencia. Por meses, las diferencias más grandes entre los genotipos TT y CC se alcanzaron en los meses de Mayo (27.8%, $P < 0.1$), Junio (29.4%, $P < 0.05$) y Julio (28.9%, $P < 0.05$), y siguieron la misma tendencia que cuando se analizaron las familias individualmente. Para el SNP612, se encontraron diferencias significativas del genotipo anidado al macho para el carácter estacionalidad/ciclicidad reproductiva entre los genotipos GG y AA. Sin embargo, esto se debe a la presencia de una única hembra con genotipo AA que presentó el 100% de ciclicidad a contraestación durante todo el estudio. Al eliminar este animal del análisis, la diferencia significativa desaparece. En promedio, el porcentaje de ovejas cíclicas fue un 37.0% y 32.2% mayor en la homocigota AA que en las ovejas GA y GG, respectivamente (63.0 y 67.8%, ambos: $p < 0.01$), sin diferencias significativas entre los genotipos GA y GG.

El estudio para la búsqueda de mutaciones en la región promotora reveló un total de 17 SNPs. De estos destacan 7 SNPs que afectan a posibles factores reguladores de la transcripción: SNPs 422 y 423 (motivo EF2), SNP436, 527 y 686 (motivo SRY), SNP482 (motivo Nkx-2) y SNP750 (motivos Brn-2 y Oct-1). La posición de los SNPs se establece en relación a la secuencia del GenBank núm. AY524665. Los 17 SNPs se analizaron mediante secuenciación en las tres familias de medio-hermanas. Sólo el macho "C" resultó ser heterocigoto para alguno de los SNPs encontrados, concretamente para los SNPs 431, 527, 686, 791 y 895, no encontrando asociación significativa con el carácter estacionalidad, si bien estos estudios no están finalizados todavía.

Como conclusión parece que el alelo T del SNP606 está asociado a un mayor porcentaje de hembras cíclicas en la raza Rasa Aragonesa, indicando que dicho SNP puede estar en desequilibrio de ligamiento con una mutación responsable cercana al gen *MTNR1A*, ya que otras mutaciones localizadas tanto en su zona codante como en su promotor, no parecen presentar asociación significativa con el carácter estacionalidad.

Tabla 1. Porcentaje medio de ovejas cíclicas (1) durante el período de Febrero a Julio basado en el estudio de frecuencias de los genotipos para el SNP606 en las tres familias (A, B y C). Número de hembras entre paréntesis.

Genotipo SNP606	Media	macho A	macho B	macho C
TT	77.5 (20) a	83.3 (10) a	71.7 (10) a	----- (0)
CT	67.1 (41) ab	74.4 (15) ab	64.3 (14) a*	61.1 (12) a
CC	55.6 (18) b	50.0 (1) b	----- (0)	55.9 (17) a

*1 hembra fue excluida del estudio de asociación debida a la falta de ciclicidad en los meses de enero a agosto. a,b: P< 0.01.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Pelletier, J., Bodin, L., Hanocq, E., et al. 2000. Biol. Reprod. 62(4): 1096-1101.
- Chu, M.X., Ji, C.L. & Chen, G.H. 2003. J. Anim. Sci. 16(12): 1701-1704.
- Mateescu, R.G., Lunsford, A.K. & Thonney, M.L. 2009. J. Anim. Sci. 87(8): 2485-2488.
- Mura, M.C., Luridiana, S., Vacca, G.M., Bini, P.P. & Carcangiu, V. 2010. Theriogenology 74(9):1579-1586.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado con los proyectos INIA RTA2006-0140, TRACE PET-2008-0076, INNPACTO IPT-010000-2010-33 y cofinanciado con fondos FEDER. A. Martínez-Royo y B. Lahoz reciben una beca de Formación de investigadores de tipo Predoctoral de INIA.

CHARACTERIZATION AND ASSOCIATION STUDIES BETWEEN MELATONIN RECEPTOR 1A (*MTNR1A*) POLYMORPHISMS AND REPRODUCTIVE SEASONALITY TRAIT IN RASA ARAGONESA SHEEP BREED.

ABSTRACT: This work focuses on the characterization and evaluation of *MTNR1A* as a candidate gene related to reproductive seasonality trait in the Rasa Aragonesa sheep breed. *MTNR1A* has shown influence on reproductive seasonality in other breeds. A significant effect was found between SNP606 of the *MTNR1A* gene and spontaneous out of season oestrous behaviour. The T allele was associated with cyclicity in Rasa Aragonesa breed. This finding, along with that this polymorphism does not result in an amino-acid substitution, suggest that SNP606 may act in linkage equilibrium with a mutation in other genes responsible for out of season breeding. New polymorphisms in the coding region (11 SNPs) of the gene *MTNR1A* did not show any association for breeding out of season in the Rasa Aragonesa breed. Association between the polymorphisms found in the promotor region (17 SNPs) and cyclicity have not been completed yet.

Keywords: *Ovis aries*, reproductive seasonality, *MTNR1A*, Rasa aragonesa, sheep.

Identificación de un locus parálogo del gen *CD36* caprino con un perfil de expresión transcripcional complementario

Zidi, A.^{1*}, Castelló, A.^{1*}, Jordana, J.¹, Carrizosa, J.², Urrutia, B.², Serradilla, J.M.³ y Amills, M.¹

¹Centre de Recerca en Agrigenòmica, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 08193 Spain. ²Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). Estación Sericícola. La Alberca, Murcia, Spain; ³Departamento de Producción Animal, Campus de Rabanales, Universidad de Córdoba, 14071 Córdoba, Spain.

* ambos autores han contribuido de forma equivalente

Ali.Zidi@uab.es

INTRODUCCIÓN

La molécula CD36 desempeña múltiples funciones fisiológicas relacionadas con el metabolismo lipídico y la respuesta inmune (Silverstein y Febbraio, 2007). En este sentido, cabe destacar que CD36 juega un papel importante en la captación y el transporte de ácidos grasos de cadena larga, presentando altos niveles de expresión durante el desarrollo de los adipocitos (Coburn et al., 2000). Desde el punto de vista inmunológico, CD36 está implicado en el proceso de fagocitosis de microorganismos y células apoptóticas (Hoebe et al., 2005; Ren et al., 1995). Se ha demostrado que ratones en los cuáles se ha inactivado el receptor CD36 son más sensibles a las infecciones por bacterias Gram-positivo (Akashi-Takamura y Miyake, 2008). Asimismo, en humano se ha observado que el polimorfismo del gen *CD36* está asociado a la susceptibilidad a la malaria (Das et al., 2009). Por otra parte, la actividad del receptor CD36 se ha vinculado a la secreción de citoquinas tanto anti- como pro-inflamatorias (Silverstein y Febbraio, 2009).

En el presente trabajo, se ha procedido a caracterizar el gen *CD36* caprino, identificándose, durante los experimentos de secuenciación, la existencia de una copia duplicada adicional (*CD36-like*). Ambos genes han sido caracterizados tanto a nivel estructural como transcripcional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para caracterizar los genes caprinos CD36 y CD36-like, se extrajo RNA total a partir de muestras de hígado y glándula mamaria de cabras de las razas Murciano-Granadina (n = 3) y Malagueña (n = 3). La síntesis del cDNA se llevó a cabo mediante el kit ThermoScript RT-PCR System Kit (Invitrogen) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los productos amplificados fueron secuenciados con el kit de secuenciación BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems), y analizados en un aparato de electroforesis capilar ABI Prism 3730 DNA Analyser (Applied Biosystems).

Para determinar el perfil transcripcional de ambos genes en cinco tejidos (hígado, bazo, glándula mamaria, grasa y corazón) procedentes de cabras de la raza Murciano-Granadina, se implementó un protocolo de cuantificación absoluta. Los cebadores fueron diseñados con el programa Primer Express v. 2.0 (Applied Biosystems). Para evitar la amplificación de ADN genómico residual, al menos uno de los cebadores fue diseñado de modo que fuese complementario a la zona de unión de 2 exones consecutivos. Se construyeron curvas de calibración tomando como referencia productos RT-PCR cuya concentración había sido inferida mediante espectrofotometría a OD 260 nm (4 réplicas). Dichas medidas de concentración fueron transformadas a n^o de moléculas de cadena sencilla (ss). μL^{-1} , estableciéndose puntos de calibración entre 10¹⁰ ss moléculas. μL^{-1} y 1 ss moléculas. μL^{-1} . Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en un volumen total de 20 μl que contenía 5 μl de cDNA molde diluido 1:10-1:100, 300 nM de cebadores y el reactivo FastStart Universal Sybr Green master (Rox) (Roche Applied Science, Mannheim, Germany). Cada muestra se analizó por triplicado. El perfil térmico fue: 10 min a 95 °C y 40 ciclos de 15 seg a 95 °C y 1 min a 60 °C.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La amplificación y la secuenciación parcial del cDNA del gen *CD36* caprino permitieron la identificación de dos secuencias distintas con una similitud aminoacídica del 84%. Al consultar las bases de datos GenBank y Ensembl, se comprobó que una de las secuencias obtenidas es ortóloga de los genes *CD36* humano, localizado en el cromosoma

7q11.2-qter (Calvo et al., 1995), y *CD36* bovino (ENSBTAT00000023750). Esta secuencia caprina, incluye la totalidad de la región codificante (1420 pb) y parte de la región reguladora 3'UTR (738 pb) de un gen *CD36*. La otra secuencia caprina (*CD36-like*) es ortóloga de un segundo gen *CD36* bovino localizado en el cromosoma 4 (ENSBTAG00000014220). La realización de un análisis filogenético bayesiano, incluyendo ambas secuencias *CD36* caprinas conjuntamente con otras secuencias *CD36* de mamíferos, permitió determinar que en bovino y caprino existen sendos genes *CD36-like*, que son parálogos del gen *CD36* y no poseen ortólogos en ninguna de las restantes especies analizadas. Ello sugiere que los genes *CD36-like* emergieron como resultado de una duplicación anterior a la radiación del bovino vs caprino (20 MYR).

Un gen duplicado puede sufrir distintos destinos, que van desde la inactivación funcional a la adquisición de una nueva función. Aunque el destino más habitual es el de convertirse en un pseudogen, mediante la acumulación de mutaciones deletéreas, existen diversos mecanismos a través de los cuales el gen duplicado puede evitar la inactivación funcional. Por ejemplo, el aumento de expresión asociado a la duplicación puede ser ventajoso desde un punto de vista selectivo (**redundancia funcional**). También puede suceder que la función del gen ancestral se distribuya entre las dos copias resultantes del proceso de duplicación (**subfuncionalización**), o que la copia duplicada adquiera una nueva función (**neofuncionalización**). El estudio de expresión mRNA en cinco tejidos caprinos distintos (glándula mamaria, bazo, hígado, corazón y grasa) demostró que ambos genes presentan un perfil de expresión que, en buena medida, resulta complementario (Tabla 1). De este modo, el gen *CD36* caprino presentó unos niveles de expresión particularmente elevados en tejido adiposo y corazón, siendo menores en glándula mamaria, > hígado > bazo (Tabla 1). Este perfil es similar al descrito para el gen *CD36* humano en UniGene (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/UniGene>). Por el contrario, el gen *CD36-like* caprino presentó un nivel de expresión muy alto en el hígado, ordenándose los distintos tejidos de la siguiente manera (Tabla 1): hígado > bazo > glandula mamaria > corazón > tejido adiposo. Estos resultados fueron confirmados mediante un experimento independiente de cuantificación relativa basado en el método $2^{-\Delta\Delta CT}$, en el que se utilizaron los genes de referencia *β -actina* y *HPRT1* (no se describen los resultados). Estos datos confirman que ambas copias del gen *CD36* se transcriben (por lo tanto, no ha habido pseudogenización) y, teniendo en cuenta que los perfiles de expresión son muy diferentes, tampoco parece que exista redundancia funcional. De hecho, la complementariedad en el perfil transcripcional de los genes *CD36* y *CD36-like* sugiere que han sufrido un proceso de subfuncionalización, acumulando mutaciones en regiones reguladoras que han provocado un cambio en la expresión tisular y una especialización funcional. La comparación de las secuencias correspondientes a las regiones 5' de los genes *CD36* y *CD36-like* bovinos demuestra que son muy distintas entre sí, apoyando dicha hipótesis. Por otra parte, se ha comprobado, mediante el programa cSNP (<http://www.pantherdb.org>), que en principio no resulta esperable que ninguna de las mutaciones que diferencian a las moléculas *CD36* y *CD36-like* caprinas provoque un cambio funcional. Asimismo, diversas posiciones aminoacídicas altamente conservadas en las proteínas *CD36* de mamíferos, también lo están en las moléculas *CD36-like*. Todo ello sugiere que los genes *CD36* caprinos no han experimentado un proceso de neofuncionalización, aunque debería hacerse pruebas funcionales para demostrarlo de forma convincente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akashi-Takamura & Miyake. 2008. Curr. Opin. Immunol. 20: 420-425;
- Calvo et al. 1995. Genomics 25:100-106.
- Coburn et al. 2000. J. Biol. Chem. 275: 32523-32529.
- Das et al. 2009. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 103: 687-690.
- Hoebe et al. 2005. Nature 433: 523-527.
- Ren et al. 1995. J. Exp. Med. 181: 1857-1862.
- Silverstein & Febbraio 2009. Sci. Signal 2:re3.

Tabla 1. Establecimiento del perfil de expresión mRNA de los genes *CD36* y *CD36-like* en cinco tejidos caprinos mediante un protocolo de cuantificación absoluta.

Tejido	Cuantificación Absoluta ¹	
	<i>CD36</i>	<i>CD36-like</i>
Hígado	43.347 ± 15.454	777.932 ± 91.371
Bazo	15.595 ± 3.386	4.192 ± 1.151
Glándula Mamaria	58.563 ± 5.177	686 ± 251
Corazón	314.302 ± 64.488	315 ± 196
Tejido adiposo	402.460 ± 66.737	21 ± 10

¹Numero de moléculas de mRNA/25 ng cDNA

Agradecimientos: Este trabajo de investigación se ha financiado en el contexto del proyecto CICYT AGL2007-66161-C02-02 concedido por el Ministerio de Ciencia e Innovación.

IDENTIFICATION OF A CAPRINE LOCUS PARALOGOUS TO THE *CD36* GENE WITH A COMPLEMENTARY TRANSCRIPTIONAL EXPRESSION PROFILE

ABSTRACT: The characterization of the goat *CD36* gene has allowed us to identify the presence of an additional duplicated copy (*CD36-like* gene). Bayesian phylogenetic analysis of mammalian *CD36* sequences evidenced the existence of two *CD36* and *CD36-like* clusters, with the latter encompassing exclusively sequences from goats and cattle. This result demonstrates that the *CD36* gene was duplicated prior to the divergence of cattle and goats (about 20 MYR). Dramatic differences were observed when analysing the tissue-specific mRNA expression of both caprine *CD36* and *CD36-like* genes by qPCR. In this way, *CD36* gene expression was higher in adipose tissue and heart, and lower in the mammary gland, liver and spleen. In contrast, *CD36-like* mRNA expression showed a complementary profile, being maximal in the liver and spleen. Altogether, these results suggest a scenario of subfunctionalization where the ancestral function of *CD36* was splitted between both *CD36* copies. Nevertheless, functional experiments are necessary to confirm this hypothesis.

Keywords: Goat, *CD36* gene, *CD36-like* gene, Duplication

ANÁLISIS GENÉTICO MULTICARACTER DEL CRECIMIENTO EN VACUNO PIRENAICO

González-Rodríguez A., Altarriba J., Moreno C., Varona L.

Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza. 50013. E-mail: aldemarango69@yahoo.es

INTRODUCCIÓN

El principal carácter de interés en los esquemas de mejora de vacuno de carne es el peso del individuo al sacrificio (Golden. et al., 1998; MacNeil, 2003; Bouquet et al., 2010), pero desafortunadamente no se encuentra disponible en los candidatos a la selección. Como consecuencia, uno de los criterios de selección más ampliamente utilizados es el peso de los animales vivos a lo largo del crecimiento, bajo la hipótesis de una correlación genética favorable con el peso al sacrificio (Meyer et al., 1993; Bennett et al., 1996; Altarriba et al., 2009; Bouquet et al., 2010). En este sentido, el programa de mejora genética que aplica la Confederación Nacional de Asociaciones de Vacuno Pirenaico (CONASPI) utiliza datos entre los 110 y 310 días (Altarriba et al., 1996; Varona et al., 1997).

En este trabajo se pretende estudiar la estructura de correlaciones genéticas y residuales entre los pesos a distintas edades y los incrementos de peso en varias fases del crecimiento, con el objetivo de describir genéticamente el proceso de crecimiento con mayor precisión.

MATERIAL Y METODOS

Datos: En este trabajo se han utilizado 25,894 pesos correspondientes a individuos entre 80 y 160 días de edad que se atribuyeron al carácter peso a los 120 días (P120), 18,283 pesos procedentes de individuos entre 170 y 250 días de edad asignados al carácter peso a los 210 días (P210), y 23,204 pesos al sacrificio obtenidos en el matadero atribuidos al peso entre 250-480 días de edad (PSAC), transformados al dividir el peso de canal fría por el rendimiento en canal medio de la población. Los pesos de animales vivos fueron proporcionados por CONASPI, mientras que los registros de peso al sacrificio fueron obtenidos mediante el Sistema de Identificación y Movimiento de Ganado Bovino (SIMOGAN). Además se calculó el incremento de peso entre 120 y 210 días (Δ 120-210) y entre 210 días y el peso vivo al sacrificio (Δ 210-PSAC) para aquellos individuos de los cuales se disponía de las dos informaciones. En la Tabla 1 se presenta un resumen de las medias y desviaciones típicas fenotípicas.

Por otra parte, se utilizó un fichero genealógico de 94,931 individuos, proporcionado por CONASPI.

Modelo estadístico: Los datos fueron analizados utilizando modelos animales bicarácter para los caracteres tomados de dos en dos.

El modelo de análisis para P120, P210 y Δ 120-210 fue:

$$y_{ijklm} = N_i + S_j + R_l + b \cdot EDAD_m + u_m + e_{ijklm}$$

Donde N es la estación de nacimiento -4 niveles-, S es el sexo - 2 niveles-, R es la explotación -348 niveles para P120, 386 niveles para P210 y 231 niveles para Δ 120-210-, b es la covariable sobre la edad a P120 y P210 y los días entre las dos pesadas en Δ 120-210, respectivamente, u es el efecto genético aditivo y e el efecto residual.

El modelo de análisis para PSAC y Δ 210-PSAC fue:

$$y_{ijklm} = N_i + S_j + M_k + R_l + b \cdot EDAD_m + u_m + e_{ijklm}$$

Donde N es la estación de nacimiento -4 niveles-, S es el sexo - 2 niveles-, M es el matadero -14 niveles-, R es la explotación -623 niveles para PSAC y 177 para Δ 210-PSAC-,

b es la covariable sobre la edad al sacrificio (PSAC) y los días transcurridos (Δ 210-PSAC), u es el efecto genético aditivo y e el efecto residual.

El análisis se realizó mediante inferencia Bayesiana mediante el procedimiento de muestreo de Gibbs y utilizando el programa TM (Legarra et al., 2008). Se asumieron distribuciones uniformes para efectos sistemáticos y componentes de varianza y covarianza, en el análisis, se simuló una única de cadena de 225,000 iteraciones, de las cuales se descartaron la primeras 25,000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las heredabilidades, correlaciones genéticas y residuales para los cinco caracteres se presentan en la Tabla 2.

En estos resultados se confirma la presencia de una heredabilidad superior o igual a 0.30 para todos los caracteres, de acuerdo con las estimaciones de la bibliografía en la misma (Varona et al., 1997; Altarriba et al., 2009) o distintas poblaciones (Bennett et al., 1996; Rios Utrera & Van Vleck, 2004; Bouquet et al., 2010).

En cuanto a las correlaciones genéticas, se observa una relación positiva y elevada entre los pesos a distintas edades (P120 y P210), pero de magnitud más moderada cuando se relacionan con el peso al sacrificio (0.38 entre P120 y PSAC y 0.48 entre P210 y PSAC). Estos resultados cuestionan la eficiencia de un esquema de selección basado exclusivamente en datos obtenidos en distintas fases de crecimiento y refuerzan la importancia de la utilización del PSAC procedente del sistema SIMOGAN en animales emparentados, como se propuso anteriormente en Altarriba et al. (2009).

Las correlaciones genéticas y residuales entre los incrementos de peso y el peso inmediatamente posterior (Δ 120-210 y P210 y Δ 210-PSAC y PSAC) son positivas y muy elevadas, pero las correlaciones genéticas entre los incrementos de peso y los pesos previos son bajas o nulas (0.18 entre P120 y Δ 120-210, -0.01 entre P120 y Δ 210-PSAC y -0.02 entre P210 y Δ 210-PSAC), indicando que la valoración genética para pesos en fases de crecimiento tiene muy poca capacidad predictiva sobre el comportamiento posterior.

Además, son destacables las correlaciones residuales negativas en torno a -0.30 entre P210 y Δ 210-PSAC y entre Δ 120-210 y Δ 210-PSAC. La presencia de estas correlaciones residuales negativas indican la existencia de un crecimiento compensatorio en la población Pirenaica, que es despreciado por las estrategias habituales de evaluación genética.

En el futuro, se pretende explorar la relación entre estos caracteres utilizando modelos recursivos (Gianola & Sorensen, 2004; Varona et al., 2007), en particular con su versión no lineal (Lopez de Maturana et al., 2009; Ibañez-Escriche et al., 2010) con el objetivo de obtener predictores del valor genético que consideren los efectos del crecimiento compensatorio y que permitan generar una predicción más adecuada del carácter objetivo a la selección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altarriba, J., Yagüe, G., Moreno, C. & Varona, L. 2009. *Livest. Sci.* 125:115-120. • Altarriba, J., Varona, L., Moreno, C., Yagüe, G. & Pastor, F. 2006. *Anim. Res.* 55: 55-63. • MacNeil, M. D. 2003. *J. Anim. Sci.* 81: 2425-2433. • Altarriba, J., García Cortes, L. A., Moreno, C. & Varona, L. 1996. *ITEA* 92: 107-116. • Bennett, G. L. & Gregory, K. E. 1996. *J. Anim. Sci.* 74: 2598-2611. • Varona, L., Moreno, C., García Cortés, L. A. & Altarriba, J. 1996. *Livest. Sci.* 47: 201-209. • Meyer, K., Carrick, M. J. & Donnelly, B. J. 1993 *J. Anim. Sci.* 71: 2614-2622. • Rios Utrera, A. & Dale Van Vleck, L. 2004. *Genet. Mol. Res.* 3: 380-394. • Golden, B. L., Garrick, D. J., Newman, S. & Enns, R. M. Economically relevant traits a framework for the next generation of EPDs, Review <http://www.beef.org.nz/research/breeding/beefert.pdf> • Bouquet A., Fouilloux M.-N., Renand G. & Phocas F. 2010 *Livest. Sci.* 129:38-48. • Gianola D. & Sorensen D. 2004 *Genet.* 167:1407-1424. • Varona L., Sorensen D., & Thompson R. 2007 *Genet.* 177:1791-1799. •

Lopez de Maturana E., Wu X.-L., Gianola D., Weigel K. A., & Guilherme J. M., 2009 Genet. 181:277-287 • Ibañez-Escriche N., Lopez de Maturana E., Noguera J., & Varona L. 2010 J. Anim. Sci. 88:3493-3503.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Confederación Nacional de Asociaciones de Vacuno Pirenaico (CONASPI) y al Sistema de Identificación y Movimiento de Ganado Bovino (SIMOGAN) por la disponibilidad de los datos utilizados.

Tabla 1. Medias y desviaciones típicas fenotípicas de los caracteres analizados.

Caracteres	Nº Datos	Media	Desviación Típica
P120	25,894	163.23	40.09
P210	18,283	265.25	56.34
PSAC	23,204	481.46	91.04
Δ P120-P210	8,815	119.34	41.28
Δ P210-PSAC	3,350	206.68	81.60

P120 (peso a los 120 días de edad), P210 (peso a los 210 días de edad), PSAC (peso al sacrificio), Δ P120-P210 (ganancia de peso entre 120-210 días de edad), Δ P210-PSAC (ganancia de peso entre 210 días de edad y peso al sacrificio).

Tabla 2. Media posterior (y desviación típica), estimación de las heredabilidades (Diagonal), correlación genética (triangulo superior), y correlación residual (triangulo inferior).

Carácter	P120	P210	PSAC	Δ 120-210	Δ 210-PSAC
P120	0.343 (0.016)	0.715 (0.027)	0.381 (0.050)	0.178 (0.064)	-0.014 (0.047)
P210	0.670 (0.010)	0.347 (0.019)	0.475 (0.047)	0.773 (0.026)	-0.020 (0.116)
PSAC	0.449 (0.023)	0.511 (0.026)	0.349 (0.022)	0.356 (0.082)	0.633 (0.062)
Δ 120-210	-0.038 (0.023)	0.763 (0.009)	0.263 (0.039)	0.292 (0.030)	-0.013 (0.127)
Δ 210-PSAC	0.047 (0.048)	-0.304 (0.044)	0.745 (0.024)	-0.321 (0.049)	0.334 (0.058)

P120 (peso a los 120 días de edad), P210 (peso a los 210 días de edad), PSAC (peso al sacrificio), Δ P120-P210 (ganancia de peso entre 120-210 días de edad), Δ P210-PSAC (ganancia de peso entre 210 días de edad y peso al sacrificio).

MULTIPLE TRAIT GENETIC ANALYSIS OF GROWTH IN THE PIRENAICA BEEF CATTLE BREED

ABSTRACT: The main objective of selection for beef cattle is weight at slaughter. Live weights throughout growth are currently used as selection criteria under the hypothesis of favorable genetic correlation with slaughter weight. In this study we used data for weight at 120 (P120) and 210 (P210) days and at slaughter (PSAC) to increase our knowledge about the genetic and environmental relationships between different phases of growth. We obtained a high and positive genetic correlation between P120 and P210, but lower between them and PSAC. Moreover, genetic correlations between gain of weight and the previous weight were null. Finally, it is remarkable the presence of negative residual correlations of around -0.30 between P210 and gain of weight from 210 days to slaughter or gains of weight between 120 to 210 days and 210 days to slaughter. The presence of these negative residual correlations suggests the existence of compensatory growth that is not considered in common strategies of genetic evaluation.

Keywords: Beef Cattle, Growth, Genetic correlation, Residual Correlation.

CURVAS DE LACTACIÓN INDIVIDUALES EN CABRAS MURCIANO GRANADINAS

González-Peña, D.¹, Gómez, E.A², Martínez-Navalón, B.y Peris, C³.

¹ Centro de Investigaciones para el Mejoramiento Animal de la Ganadería Tropical.

² Centro de Investigación y Tecnología Animal-IVIA. 187. 12400 Segorbe. Castellón.

³ Instituto de Ciencia y Tecnología Animal – UPV. 46022 Valencia.

e-mail: dgpf79@gmail.com

INTRODUCCIÓN

El uso de modelos matemáticos empíricos ha permitido conocer las curvas de lactación de animales domésticos; aunque, no todos los modelos se adecuan a una curva de lactación típica (Quintero et al., 2007). La selección se basa en la habilidad de éstas para describir ese patrón específico, caracterizado por una fase ascendente hacia el pico, seguida por la fase decreciente, considerada la forma estándar. El análisis de relación entre las propiedades matemáticas del modelo y el patrón de lactación han estado enfocados en la posibilidad del modelo de ajustarse a ese comportamiento estándar y al menos todas las funciones propuestas son capaces de ajustarse al patrón promedio con altos niveles de exactitud. Sin embargo, estas son también capaces de representar analíticamente otras formas, lo que ha sido escasamente considerado (Macciotta et al., 2005).

En general los trabajos en esta temática han estado dirigidos a curvas promedio para seleccionar el modelo de curva de mejor ajuste, adoptándola para el ajuste de todas las lactaciones en el conjunto de datos. Estos criterios para seleccionar el mejor modelo, muchas veces ignoran los problemas estadísticos o biológicos que pueden estar ocurriendo cuando el ajuste se extiende a lactaciones individuales. La principal consecuencia puede ser la estimación de parámetros irreales (Faro y Albuquerque, 2002).

El objetivo de este estudio fue conocer las posibles curvas individuales que se presentan en cabras de raza Murciano Granadinas, a partir de 4 modelos capaces de describir las curvas de lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 34031 registros de 6807 primeras lactaciones de cabras de la raza Murciano Granadinas, controladas cada 6 semanas entre los años 1999 y 2010 en la comunidad Valenciana.

Para modelar la curva de lactación fueron seleccionadas las siguientes funciones:

- El modelo de Wood, recomendado para esta raza por León et al. (2007):

$$Y_t = at^b e^{-ct}$$

- El modelo de Wilmink:

$$Y_t = a + be^{-kt} + ct$$

- La regresión polinomial de Ali-Schaeffer:

$$Y_t = a + b(t/210) + c(t/210)^2 + d \log(210/t) + k[\log(210/t)]^2$$

- Y los polinomios ortogonales de Legendre:

$$Y_t = \alpha_0 xP_0 + \alpha_1 xP_1 + \alpha_2 xP_2 + \alpha_3 xP_3 + \alpha_4 xP_4$$

En todos los modelos Y_t es la producción de leche en el día de control en el tiempo t medido en días en lactación al momento del control (DEL). Las funciones de tiempo P_i de los modelos que utilizan polinomios de Legendre, fueron calculados a partir de los valores publicados por Schaeffer (2004). La bondad de ajuste de los 4 modelos considerados fue evaluada por el coeficiente de determinación ajustado y clasificado en 4 niveles (L1<0.25; L2=0.25 a 0.50; L3=0.50 a 0.75 y L4= > 0.75). Se seleccionaron las curvas individuales con coeficientes de determinación ajustados, superiores a 0,75 y agrupados de acuerdo con las diferentes combinaciones de los signos de los parámetros (Macciotta et al., 2005).

Todos los análisis se efectuaron con diversos procedimientos de SAS (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contrariamente a lo referido por Macciotta et al. (2005) y Dimauro et al. (2006), los modelos de 5 parámetros, a pesar de su flexibilidad, no presentaron la mayor cantidad de lactaciones con bondad de ajuste superiores a 0.75. Esto podría deberse al tipo de muestreo, en que

los intervalos no tienden a ser mensuales, al igual que en el bovino por lo que quizás el uso de un modelo de 5 parámetros no sea necesario.

Tabla 1. Frecuencias relativas de los ajustes entre diferentes clases de coeficientes de determinación ajustados para los rasgos en estudio.

Clases de R^2_A	Modelos			
	Wood	Wilmink	Ali-Schaeffer	Legendre
	Leche			
<0.25	31.96	31.28	58.67	41.01
0.25 a 0.50	1.65	1.55	1.36	1.62
0.50 a 0.75	13.74	14.15	10.14	12.76
>0.75	52.65	53.02	29.84	44.61
	Grasa			
<0.25	41.44	31.53	58.89	44.77
0.25 a 0.50	1.46	1.40	1.21	1.41
0.50 a 0.75	12.40	12.16	9.65	10.65
>0.75	44.71	54.91	30.26	43.17
	Proteína			
<0.25	23.63	23.36	46.80	36.36
0.25 a 0.50	1.13	1.19	1.12	1.21
0.50 a 0.75	11.90	11.96	9.96	10.98
>0.75	63.33	63.48	42.22	51.46

En la tabla 2 se presentan las frecuencias relativas de las formas detectadas en lactaciones con bondad de ajuste superior a 0.75 para las funciones de Wood y Wilmink. La forma estándar (parámetro b positivo y c negativo) presentó los mayores porcentajes para producción de leche. Igual combinación de signos fue encontrada por Fernández et al. (2002) en esta raza. La forma estándar reversa caracterizada por tener el parámetro b negativo y c positivo para Wood y los dos parámetros positivos para Wilmink de acuerdo a la definición establecida por Macciotta et al. (2005) es la más común para grasa y proteína.

Tabla 2. Frecuencias relativas de las formas de curvas detectadas por Wood y Wilmink.

Tipo de curva	Wood			Wilmink		
	Leche	Grasa	Proteínas	Leche	Grasa	Proteínas
Estándar	63.54	30.37	28.43	59.11	27.67	21.78
Atípica	7.93	7.48	5.21	7.18	9.04	13.11
Estándar reversa	25.92	56.39	60.32	17.81	48.11	52.10
Incremento continuo	2.61	5.76	6.05	15.89	15.18	13.51

El modelo de Ali-Schaeffer llegó a detectar 14 posibles tipos de curvas para leche, 16 para grasa y 15 para proteína, mientras que los polinomios de Legendre reconocieron 22, 16 y 16 tipos para leche, grasa y proteínas, respectivamente. Sin embargo, cada grupo de curvas puede ser considerado como resultado de una deformación específica de las dos formas básicas, estándar o atípica, que se hacen más variables por la presencia de puntos de inflexión por grupos de curvas.

Las funciones matemáticas propuestas para describir la curva de producción de leche a través de la lactación fueron capaces de representar diferentes formas, que se pueden considerar derivaciones de los dos grupos clásicos de típicas o atípicas. Los resultados de este estudio muestran que los análisis basados en curvas promedio enmascaran la individualidad del comportamiento individual.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, T.E. & Schaeffer, L.R. 1987. Accounting for covariances among test day milk yields in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 67:637-644.
- Dimauro, C., Vicario, D, Canavesi, F., Cappio-Borlino, A y Macciotta, N.P.P. 2006. Analysis of individual variability of the shape of lactation curve for milk fat and protein contents in Italian Simmental cows. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13-18, 2006, Belo Horizonte, MG, Brasil.
- Faro, L.E. & Albuquerque, L.G. 2002. Comparação de alguns modelos matemáticos para o ajuste as curvas de lactação individuais de vacas da raça Caracu. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 54(3): 295-302.
- Fernández, C., Sánchez, A. & Garcés, C. 2002. Modelling the lactation curve for test-day milk yield in Murciano-Granadina goats. *Small Rumin. Res.* 46:29-41.
- León, J.M., Quiroz, J., Pleguezuelos, J., Martínez, E. y Delgado, J.V. 2007. Curva de lactación para el número de lactación en cabras Murciano-Granadinas. *Arch. Zootec.* 56(Sup.1): 641-646.
- Macciotta, N.P.P., Vicario, D. & Cappio-Barlino, A.. 2005. Detection of different shapes of lactation curve for milk yield in dairy cattle by empirical mathematical models. *J. Dairy Sci.* 88: 1178-1191.
- Quintero, C.J., Serna, I.J., Hurtado, N.A., Noguera, R.R. & Cerón-Muñoz, F.M. 2007. Modelos matemáticos para curvas de lactancia en ganado lechero. *Rev. Col. Cienc. Pec.* 20:149-156.
- SAS. 1995. SAS user's guide for Windows environment 6.08 ed. Cary, SAS Institute Inc.
- Schaeffer, L.R. 2004. Application of random regression models in animal breeding. *Livest. Prod. Sci.* 86: 35-45.
- Wilmink, J.B.M. 1987. Studies on test-day and lactation milk, fat and protein yield of dairy cows. Ph.D. thesis, Landbouwniversiteit, Wageningen, Netherlands.
- Wood, P.D.P. 1967. Algebraic model of lactation curve in cattle. *Nature (Lond.)* 216:164-165.

INDIVIDUAL LACTATION CURVES IN MURCIANO GRANADINA GOATS

ABSTRACT

In order to detect possible occurrence of different shapes of lactation curves for milk, fat and protein 34 031 records of 6807 first lactation of Murciano Granadina goats monitored between 1999 and 2010 in Valencia were analysed. The functions used to describe the lactation curve were Wood, Wilmink, Ali-Schaeffer and Legendre polynomials. Parameters were estimated by iterative methods. The criterion of choice to verify the goodness of fit was the adjusted coefficient of determination (R^2_A). Three-parameter models detected 4 shapes of lactation curve. Wood model classified as standard the 64 % of lactation for milk while 56 and 60 % belonged to the standard reverse for fat and protein, respectively. The Wilmink function showed the same behaviour with values of 59, 48 and 52 % for milk, fat and protein respectively. Ali-Schaeffer and Legendre's Polynomials models were able to recognize from 14 to 22 shapes of lactation curve. The results suggest that analysis based on average curve hide the individual behaviour on the population.

Keywords: lactation curve shape, mathematical model, goats.

SELECCIÓN POR CONTENIDO DE OLEICO EN CARNE DE CERDOS DUROC

Reixach, J.¹, Ros, R.², Tor, M.² y Estany, J.²

¹Selección Batallé, Avda Segadors, s/n, 17421 Riudarenes. ²Universitat de Lleida, Departament de Producció Animal, Rovira Roure, 191, 25198 Lleida
jestany@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El contenido de ácido oleico (OL) en la carne de porcino, especialmente en la producción de curados, es una característica de calidad de creciente interés. En los últimos años se han publicado un buen número de trabajos relacionados con la detección de QTL o genes asociados con el contenido y la composición de la grasa intramuscular (GIM), pero son muy pocos en los que se han estimado sus parámetros genéticos (Suzuki et al., 2006) y, en especial, evaluado los distintos escenarios de respuesta esperada, tanto en GIM y OL como en el conjunto de caracteres económicos (Solanes et al., 2009). Por otra parte, las estimaciones publicadas de los parámetros de composición de la grasa, y de OL en particular, se han obtenido a partir de datos de grasa subcutánea (Fernández et al., 2003; Hofer et al., 2006) o bien de muy pocos datos de GIM, por lo general incluyendo registros de varias razas (Sellier et al., 2010) o de cerdos cruzados (Ntawubizi et al., 2010).

El objetivo de esta comunicación es estimar los parámetros genéticos asociados a OL y discutir la respuesta esperada en GIM y OL en relación con la obtenida en el peso (P) y el espesor de la grasa dorsal (GD) en una población Duroc. OL se ha expresado tanto en porcentaje respecto al resto de ácidos grasos (OL%) como en mg/g de muestra (OLg), atendiendo a que nuestro grupo de investigación ha desarrollado un método capaz de determinar de forma rápida los mg de OL en muestras pequeñas de carne de cerdo (Muñoz et al., 2011). Una aplicación del método se presenta en estas jornadas.

MATERIAL Y MÉTODOS

La base de datos completa comprendió 93,920 cerdos Duroc de una línea cerrada en 1991, de los cuales 85,252, que nacieron entre 1996 y 2010, tuvieron al menos un registro (Tabla 1). A los 75 días de edad, se transfirieron a unidades de engorde en donde fueron alimentados a voluntad en corrales agrupados por sexo (machos, hembras y castrados). A los 180 días (DT 11) se controló P y GD, éste último mediante un equipo Piglog 105 a la altura de la última costilla, a unos 5 cm de la línea media. Los cerdos castrados se engordaron hasta los 215 días (DT 11). Una vez sacrificados, a una muestra de ellos, después de 24 h a 2^o C, se les extrajo unos 70 g de *gluteus medius* del jamón izquierdo a fin de determinar el contenido de GIM y su composición, en particular OL.

Tabla 1. Descripción de los datos utilizados en los análisis.

Carácter	n	Media	DT	Mínimo	Máximo
Peso, kg	85,002	104.8	12.5	62.0	167.0
Grasa Dorsal, mm	80,687	15.6	3.5	6.5	36.0
GIM, %	943	4.9	1.9	1.5	13.3
OL, % ácidos grasos	947	44.8	3.1	36.3	55.5
OL, mg/g	943	21.0	8.2	5.1	54.3

Los cerdos se muestrearon o bien al azar o bien fueron seleccionados según su valor genético predicho para P o GD. El contenido en GIM se determinó por duplicado a partir de la suma de los ácidos grasos individuales expresados en su equivalente en triglicéridos (Bosch et al., 2009). El contenido de cada ácido graso, y el de OL en particular, se obtuvo mediante determinación cuantitativa por cromatografía de gases, una vez obtenidos los respectivos metilésteres por transesterificación directa (Rule, 1997).

Los parámetros genéticos del P, GD, GIM y OL se estimaron usando un modelo animal tetra-variante. El modelo para P y GD incluyó el lote de engorde (1039 clases), el sexo (3 clases) y la camada (32,426), mientras que el de GIM y OL sólo el del lote de sacrificio (13 clases). En ambos casos se tuvo en cuenta la edad al control como covariable. GIM y OL

son variables de tipo composicional, por lo que también se analizaron las transformadas logratio isométricas (ilr), que permiten convertir datos composicionales en valores del espacio real (Egozcue et al., 2003). Los valores de los parámetros se infirieron usando el programa TM (Legarra et al., 2008), a partir de muestras extraídas de la distribución marginal posterior con una única cadena de 500,000 iteraciones, descartando las 100,000 y reteniendo luego una de cada 100. El cálculo de los estadísticos de la distribución marginal y el diagnóstico de convergencia se hizo mediante el paquete BOA (Smith, 2005). La respuesta esperada en cada carácter se obtuvo mediante el programa SelAction (Rutten et al., 2002), asumiendo los parámetros genéticos anteriores y una estructura poblacional de 40 verracos, 400 cerdas y 4 descendientes por cerda con medidas de P y GD, y en el que de cada familia paterna se sacrifican tres individuos de camadas distintas para determinar GIM y OL. Se ha considerado una presión de selección del 25% en machos y del 50% en hembras.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en oleico en la carne de cerdo, expresado como OL% o como OLg, y en consonancia con lo observado para GIM (Solanes et al., 2009), presenta una heredabilidad alta y una correlación genética favorable con P (sobre todo OL%), pero desfavorable con GD (sobre todo OLg) (Tabla 2). En cualquier caso, esta última correlación fue inferior a la encontrada en Solanes et al. (2009), donde los registros de GIM se determinaron mediante métodos indirectos (NIT). La correlación genética entre GIM y OLg es muy alta, prácticamente la unidad, por lo que ambos caracteres pueden considerarse equivalentes desde el punto de vista genético. No se han observado cambios relevantes al utilizar las transformadas ilr de GIM y OL, pero sí cuando en los análisis sólo se incluyeron los datos de P y GD de los cerdos con registros de OL, lo que evidencia que estimar los parámetros genéticos (en especial las correlaciones) a partir de datos obtenidos para otros propósitos puede llevar a inferencias erróneas.

Tabla 2. Heredabilidades y correlaciones genéticas (r_G) del contenido en oleico, expresado en porcentaje respecto al resto de ácidos grasos (OL%) o en mg/g muestra (OLg), con el peso (P), el espesor de grasa dorsal (GD) y el contenido de grasa intramuscular (GIM).

Carácter	h^2		r_G OL%		r_G OLg	
	Media (DT)	HPD ₉₅ ^a	Media (DT)	HPD ₉₅ ^a	Media (DT)	HPD ₉₅ ^a
P	0.31 (0.01)	0.29;0.33	0.12 (0.11)	-0.11;0.34	0.28 (0.10)	0.11;0.48
GD	0.45 (0.01)	0.42;0.47	0.23 (0.11)	0.01;0.43	0.38 (0.10)	0.16;0.57
GIM	0.57 (0.09)	0.43;0.75	0.48 (0.11)	0.26;0.69	0.98 (0.01)	0.96;0.99
OL%	0.51 (0.08)	0.36;0.68	-	-	-	-
OLg	0.58 (0.08)	0.43;0.74	0.57 (0.10)	0.38;0.74	-	-

^aHPD95: Intervalo mínimo de máxima densidad al 95%.

El perfil de respuestas esperadas confirma que existen estrategias de selección que mejoran simultáneamente P, GD, GIM y OL%. En la Tabla 3 se detalla la respuesta en GD, GIM y OL% para algunos casos en los que se incluye GIM, OL% o OLg en el objetivo y/o criterio de selección. En caso de no incluirlos sólo consigue, en la mejor de las situaciones (caso 1: se prima P sobre GD), mantenerlos estables; cuando ocurre lo contrario (caso 2: se prima GD sobre P), tanto GIM% como OL% disminuyen. Se constata que OLg es igual o mejor criterio que GIM, tanto si el objetivo es disminuir GD y mantener GIM (casos 3 y 4) como aumentar GIM o OL% a GD constante (casos 5 y 6). En términos de respuesta, estos dos últimos casos son equivalentes. OL% resulta interesante como criterio sólo cuando también está en el objetivo. En conjunto, los resultados expuestos sugieren que OLg puede ser un criterio útil para mejorar GIM y OL%. Es en este sentido que el método de Muñoz et al. (2011) para determinar OLg aparece como una opción interesante para que sea un criterio de selección practicable.

Tabla 3. Respuesta genética esperada en diferentes escenarios de selección.

Caracteres objetivo ^a	Restricciones	Caracteres criterio ^a	Respuesta esperada		
			GD, mm	GIM, %	OL%
1. P, GD	$\Delta GD=0$	P, GD	0.00	+0.05	-0.03
2. P, GD	$\Delta P=0$	P, GD	-0.92	-0.21	-0.19
3. P, GD, GIM	$\Delta GIM=\Delta P=0$	P, GD, GIM	-0.78	0.00	-0.06
		P, GD, OLg	-0.78	0.00	-0.03
		P, GD, OL%	-0.49	0.00	+0.21
4. P, GD, OLg	$\Delta GIM=\Delta P=0$	P, GD, GIM	-0.79	0.00	-0.06
		P, GD, OLg	-0.86	0.00	-0.04
		P, GD, OL%	-0.51	0.00	+0.20
5. P, GD, GIM	$\Delta GD=\Delta P=0$	P, GD, GIM	0.00	+0.29	+0.15
		P, GD, OLg	0.00	+0.29	+0.19
		P, GD, OL%	0.00	+0.13	+0.34
6. P, GD, OL%	$\Delta GD=\Delta P=0$	P, GD, GIM	0.00	+0.29	+0.15
		P, GD, OLg	0.00	+0.29	+0.19
		P, GD, OL%	0.00	+0.13	+0.34

^a Los símbolos de los caracteres se han descrito en la Tabla 2

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Bosch, L., Tor, M., Reixach, J. & Estany J. 2009. Meat Sci. 82:432-437 • Egozcue, J.J., Pawlowsky-Glahn, V. et al. 2003. Math. Geol. 35:279-300 • Fernández, A., de Pedro, E. et al. 2003. Meat Sci. 64:405-410 • Hofer, A., Luther, H. et al. 2006. 8th World Cong. Gen. Appl. Liv. Prod., Brasil • Legarra, A., Varona, L. et al. 2008. Manual TM (<http://cat.toulouse.inra.fr/~alegarra/>) • Muñoz, R., Vilaró, P., Eras, J., Estany, J. & Tor, M. 2011. Rapid Commun. Mass. Spectrom. • Ntawubizi, M., Colman, E. et al. 2010. J. Anim. Sci. 88:1286-1294 • Rule, D.C. 1997. Meat Sci. 46:23-32 • Rutten, M.J.M., Bijma, P. et al. 2002. J. Heredity, 93:456-458 • Sellier, P., Maignel, L. & Bidanel, J.P. 2010. Animal 4:497-504 • Smith, B.J. 2005. <http://www.public-health.uiowa.edu/boa/> • Solanes, X., Reixach, J., Tor, M., Tibau, J. & Estany, J. 2009. Liv. Sci. 123:63-69 • Suzuki, K., Ishida, M. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84:2026-2034.

Agradecimientos: Proyecto financiado por el MICINN (AGL2009-09779). R. Ros es beneficiario de una beca FPI (BES-2010-034607).

SELECTION FOR OLEIC ACID CONTENT IN DUROC

ABSTRACT. Intramuscular fat (IMF) and oleic fatty acid (OL) content are two important traits influencing pork quality. The aim of the present study was to estimate the genetic parameters associated to OL, either expressed as percentage of total fatty acids (OL%) or in mg/g of fresh meat (OLg), and then discuss the opportunities for improving IMF and OL in relation to live weight (BW) and backfat thickness (BT). OL displayed a high heritability and resulted to be positively correlated with IMF, BW and BT. OL% was less correlated to GD than OLg but OLg was more correlated to BW than OL%. Expected responses showed that there is room to change IMF and OL through selection without changing BW and BT. It is concluded that selection for OLg can be a useful criterion for improving both IMF and OL.

Keywords: oleic acid; intramuscular fat; selection; pigs

UN MODELO BINOMIAL RECURSIVO PARA LA MORTALIDAD DE LOS LECHONES

Varona, L.¹ y Sorensen, D. A.²

1 Unidad de Genética Cuantitativa y Mejora Animal. Universidad de Zaragoza. 50013. Zaragoza

2 Department of Genetics and Biotechnology. Faculty of Agricultural Sciences. University of Aarhus, DK-8830 Tjele, Dinamarca.

varona@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Los caracteres de interés económico en producción animal presentan en algunas ocasiones distribuciones muy alejadas de la normalidad. Este hecho dificulta la aplicación de modelos lineales para la evaluación genética y la estimación de componentes de varianza. Pese a esta dificultad, los procedimientos basados en inferencia bayesiana permiten utilizar modelos explicativos de los datos que utilizan distribuciones alternativas para la descripción de la distribución condicional de los datos dados los parámetros.

Un claro ejemplo de un carácter alejado de la normalidad es el número de lechones muertos como carácter atribuible a la madre. En este sentido, Varona y Sorensen (2010) estudiaron el grado de ajuste de varias distribuciones candidatas (Poisson, Binomial y Binomial Negativa), tanto en su versión habitual con en la modalidad de cero inflado. El resultado fue que el modelo más apropiado fue la distribución binomial.

Sin embargo, un limitante para la utilización de estas distribuciones no gaussianas radica en la dificultad para modelizar relaciones entre caracteres. En este sentido, los modelos recursivos (Gianola y Sorensen, 2004; Varona et al., 2007) pueden permitir una interesante alternativa para considerar relaciones entre caracteres con distribuciones no gaussianas. El objetivo de este trabajo es extender el análisis del carácter número de lechones nacidos muertos con la inclusión de recursividad entre el carácter número total de lechones y número de lechones muertos, ambos atribuidos a la madre.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este trabajo se utilizaron datos de poblaciones porcinas danesas registrados entre mayo de 2002 y diciembre de 2004. La base de datos consistió en información procedente de 5178 y 3938 camadas de las poblaciones Landrace y Yorkshire, respectivamente. En cada camada, se registró el número de lechones nacidos totales y muertos. Además, se utilizaron dos ficheros genealógicos de 8800 individuos en la población Landrace y de 7143 en la población Yorkshire.

Los datos se analizaron mediante inferencia bayesiana utilizando métodos de MCMC. Para ello se definió la distribución posterior conjunta de los parámetros desconocidos dados los datos.

$$f(\mathbf{b}_\varphi, \mathbf{b}_t, \mathbf{u}_\varphi, \mathbf{u}_t, \mathbf{p}_\varphi, \mathbf{p}_t, \sigma_{u\varphi}^2, \sigma_{ut}^2, \sigma_{p\varphi}^2, \sigma_{pt}^2, \sigma_{e\varphi}^2, \lambda | \mathbf{y}, \mathbf{t}) \\ \propto f(\mathbf{y} | \varphi, \mathbf{t}) f(\varphi | \mathbf{b}_\varphi, \mathbf{u}_\varphi, \mathbf{p}_\varphi, \lambda, \mathbf{t}) f(\mathbf{t} | \mathbf{b}_t, \mathbf{u}_t, \mathbf{p}_t, \sigma_{e\varphi}^2) f(\mathbf{u}_\varphi | \sigma_{u\varphi}^2) f(\mathbf{u}_t | \sigma_{ut}^2) \\ f(\mathbf{p}_\varphi | \sigma_{p\varphi}^2) f(\mathbf{p}_t | \sigma_{pt}^2) f(\mathbf{b}_\varphi) f(\mathbf{b}_t) f(\sigma_{u\varphi}^2) f(\sigma_{ut}^2) f(\sigma_{p\varphi}^2) f(\sigma_{pt}^2) f(\sigma_{e\varphi}^2) f(\lambda)$$

Donde \mathbf{y} es el vector de datos de lechones nacidos muertos por camada, \mathbf{t} es el vector de datos de lechones nacidos totales por camada, φ es el vector de probabilidades de nacer vivo o muerto en cada camada, \mathbf{b} , \mathbf{u} y \mathbf{p} son los vectores de efectos sistemáticos, genéticos aditivos y ambientales permanentes, tanto para la probabilidad de nacer muerto (φ) como para el número total de lechones nacidos (\mathbf{t}). Además σ_u^2 , σ_p^2 son los componentes de varianza genética aditiva y ambiental permanente para φ y \mathbf{t} . Finalmente σ_e^2 es la varianza residual para el número total de nacidos y λ es el parámetro de recursividad entre el número total de nacidos vivos y la transformación logit de la probabilidad de nacer muerto.

La probabilidad de los datos dados los parámetros fue

$$f(\mathbf{y}|\mathbf{t}, \boldsymbol{\varphi}_i) = \sum_{i=1}^N \binom{t_i}{y_i} \varphi_i^{y_i} (1 - \varphi_i)^{t_i - y_i}$$

donde N es la número total de datos, $\mathbf{t} = \{t_i\}$ y $\boldsymbol{\varphi} = \{\varphi_i\}$.

En una jerarquía previa se asume que:

$$\logit(\boldsymbol{\varphi}) = \mathbf{X}\mathbf{b}_\varphi + \mathbf{Z}\mathbf{u}_\varphi + \mathbf{W}\mathbf{p}_\varphi + \lambda\mathbf{t}$$

$$\mathbf{t} = \mathbf{X}\mathbf{b}_t + \mathbf{Z}\mathbf{u}_t + \mathbf{W}\mathbf{p}_t + \mathbf{e}_t$$

Además, se definieron las siguientes distribuciones a priori para los valores genéticos, efectos permanentes y residuales:

$$\mathbf{u}_\varphi | \mathbf{A}, \sigma_{u\varphi}^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{A}\sigma_{u\varphi}^2) \quad \mathbf{u}_t | \mathbf{A}, \sigma_{ut}^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{A}\sigma_{ut}^2)$$

$$\mathbf{p}_\varphi | \sigma_{p\varphi}^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_{p\varphi}^2) \quad \mathbf{p}_t | \sigma_{pt}^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_{pt}^2)$$

$$\mathbf{e}_t | \sigma_{et}^2 \sim N(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_{et}^2)$$

Finalmente, las distribuciones a priori para los componentes de varianza y el parámetro de recursividad se asumieron uniformas en un rango de valores posibles.

Los resultados de este modelo se han comparado con los obtenidos en Varona y Sorensen (2010) mediante la suma de los logaritmos de la ordenada de la distribución condicional predicativa (CPO) que se aproxima mediante:

$$\hat{p}(Y_i = y_i | y_{-i}, M_k) = n \times \left[\sum_{j=1}^{N_s} \frac{1}{p(Y_i = y_i | \theta_i^{(j)}, M_k)} \right]$$

donde $\theta_i^{(j)}$ es la *j*th muestra de los parámetros en el proceso de MCMC y N_s es el número de muestras, 500,000 en este caso, después de descartar las primeras 100,000.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias y desviaciones típicas posteriores estimadas para los componentes de varianza y el parámetro de recursividad se presentan en las Tabla 1.

Los resultados de componentes de varianza para la transformación logit de la probabilidad de nacer muerto son similares a los obtenidos por Varona y Sorensen (2010), pero cuando se compararon los modelos mediante el logaritmo de la CPO, el modelo con recursión obtuvo una logCPO considerablemente superior, -9320 vs. 10162 en Landrace y -6185 vs. -6358 en Yorkshire. Estos resultados indican que el modelo que incluye recursividad entre el número de lechones totales y la probabilidad de nacer muerto mejora el grado de ajuste del modelo e incluye la relación entre ambos caracteres.

Este resultado muestra que los modelos recursivos permiten incluir relaciones entre caracteres aun cuando la distribución de los datos condicionada a los parámetros sea diferente entre ellos, y además puede generalizarse hacia modelos no lineales de relación como los descritos por López de Maturana et al. (2009) e Ibáñez-Escriche et al. (2010).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ibáñez-Escriche, N., López de Maturana, E., Noguera, J. L. & Varona, L. 2010. J. Anim. Sci. 88: 3493-3503.
- Gianola, D & Sorensen, D. 2004. Genetics 167:1407-1424.
- Lopez de Maturana, E., Wu. X., Gianola. D, Weigel, K. A. & Rosa G. J. M. 2009. Genetics 181: 277-287.
- Varona, L., Sorensen, D. & Thompson R. 2007. Genetics 177:1791-1799.
- Varona, L. & Sorensen, D. 2010. Genetics 184: 277-284.

Tabla 1. Medias y desviaciones típicas posteriores de los componentes de varianza, heredabilidad y parámetro de recursividad en las poblaciones Landrace y Yorkshire danesas.

	Landrace		Yorkshire	
	Media posterior	Desviación típica posterior	Media posterior	Desviación típica posterior
$\sigma_{u\phi}^2$	0.162	0.032	0.165	0.046
σ_{uf}^2	0.907	0.216	0.800	0.235
$\sigma_{p\phi}^2$	0.281	0.028	0.494	0.049
σ_{pf}^2	0.757	0.320	0.738	0.339
σ_{ef}^2	10.015	0.355	9.103	0.378
h_t^2	0.078	0.018	0.075	0.022
λ	0.094	0.005	0.121	0.007

A RECURSIVE BINOMAL MODEL FOR PIGLET MORTALITY

ABSTRACT: Some interesting traits animal production does not follow a Gaussian distribution. Bayesian analysis allows to model successfully alternative distributions of data, although is not clear how to model relationship between traits. Recursive models provide a useful alternative that it is here used for piglet mortality and its relationship with litter size. The main result indicates a positive effect of litter size in the probability of born dead of a particular piglet. The adequacy of the model was tested by the logarithm of the conditional predictive ordinate of data, showing that the model improve the predictive ability over the model that does not include the recursive relationship with litter size.

Keywords: Bayesian analysis, recursive models, piglet mortality, Markov Chain Monte Carlo

COMPARACIÓN DE CARACTERES DE CRECIMIENTO EN EL ORIGEN DE CUATRO LINEAS MATERNALES DE CONEJO

Mínguez, C.¹, Sánchez, J. P.¹, Ragab, M.^{1,2} y Baselga, M.¹

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, U. Politécnica de Valencia, España.

²Poultry Depart., Fac. of Agric., Kafr El-Sheikh University, Egipto.

carminba@upvnet.upv.es

INTRODUCCIÓN

El criterio de selección de las líneas maternales en conejo de carne es normalmente el tamaño de camada al nacimiento o al destete. Sin embargo, es importante tener en cuenta cómo se ven afectados los caracteres de crecimiento al seleccionar por los reproductivos, ya que el gazapo engordado en explotaciones comerciales, proviene de un cruzamiento a tres vías, y por tanto su madre (cruce de dos líneas maternales) aporta el 50% de sus genes. El objetivo de este estudio es comparar, para caracteres de crecimiento, cuatro líneas maternales de conejos (A, V, H y LP) fundadas bajo distintos criterios, pero seleccionadas todas ellas para tamaño de camada al destete. La comparación se realiza en el momento de fundación de las líneas incluyendo todos los datos de crecimiento y de genealogía desde el momento de su fundación.

MATERIAL Y METODOS

Se han considerado un total de 344,608 registros de peso al destete (**PD**), 320,801 de pesos al sacrificio (**PS**) y ganancia media diaria (**GMD**) y 46,819 de tamaño de camada al destete (**ND**). El pedigree completo asociado a este conjunto de datos incluyó 346,638 animales de los que 108,386 pertenecían a la línea A, 164,483 a la línea V, 36,251 a la línea H y 37,518 a la línea LP. El proceso de selección se ha llevado a cabo en la granja experimental de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV) y actualmente se encuentra en sus generaciones 41, 37, 18 y 5 para las líneas A, V, H y LP, respectivamente.

Durante todo el proceso de selección el sistema de producción ha sido semi-intensivo, las conejas se han cubierto por primera vez a las 17 semanas de edad, y tras el parto la siguiente cubrición se ha tenido lugar 12 días después. Este ritmo reproductivo se aplicaba en lotes semanales de cubrición. El destete se realizaba a los 28 días de edad de los gazapos. Tanto las madres como los gazapos de engorde se han alimentado con un pienso comercial estándar. En el momento del destete, los gazapos fueron identificados individualmente mediante un tatuaje y llevados a una nave anexa, donde eran cebados en jaulas colectivas de 9 individuos hasta los 63 días de edad.

La estimación de las diferencias entre las líneas en el origen para PD, PS y GMD se realizó con el siguiente modelo lineal animal univariado:

$$Y_{ijklmn} = LAE_{ij} + OP_k + L_l + b_1NV + a_i + m_m + co_n + e_{ijklmn}$$

LAE_{ij} es el efecto de la combinación línea-año-estación, OP_k es el efecto del orden de parto en que nace el animal, L_l corresponde al de la línea a la que pertenece el animal, NV es la covariable número de nacidos vivos, a_i es el valor aditivo, m_m es el efecto materno, co_n es el efecto aleatorio de la camada de origen y e_{ijklmn} es el error.

A partir de las estimas de los efectos LAE y L se calcularon las diferencias entre cada par de líneas, para ello se consideró la diferencia entre los efectos principales de cada línea y la diferencia entre los promedios de los efectos de los niveles de LAE en los que coexistieron animales de las dos líneas involucradas en la comparación. Como el modelo de análisis incluyó el efecto genético aditivo a través de la genealogía hasta la generación de fundadores, las diferencias entre las líneas se referirán al momento de sus respectivas fundaciones.

Las componentes de varianza de los factores aleatorios del modelo anterior se estimaron a partir de tres análisis bivariados en los que se consideró de manera simultánea PD, PS y GMD con ND. Para el PD, PS y GMD el modelo fue el mismo que el que hemos descrito anteriormente y para ND se usó el siguiente:

$$ND_{ijkl} = LAE_{ij} + EF_k + L_j + a_i + p_l + e_{ijkl}$$

Donde los términos diferentes al modelo anterior son EF_k que es el efecto del estado fisiológico de la hembra en el momento de la cubrición (núlpara, primípara lactante, primípara no lactante, múltipara lactante y múltipara no lactante) y p_l es el efecto aleatorio permanente asociado a la hembra que produce el parto.

Los componentes de varianza de este modelo fueron estimados por un procedimiento EM-REML, la estructura de covarianzas asumida entre los términos de los modelos se puede observar en los propios resultados

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las heredabilidades estimadas fueron de 0.09 para ND, 0.09 para PD, 0.20 para PS y de 0.20 para GMD. Y las estimas de correlaciones entre los términos aleatorios del modelo para ND y los caracteres de crecimiento se dan en la Tabla 1.

Tabla 1. Correlaciones genéticas y ambientales entre número de destetados y los caracteres de crecimiento.

	Correlación Genética	Permanente/Materna
PD	0.22	-0.22
PS	0.18	-0.05
GMD	0.17	0.80

-- Se asumieron incorrelacionados

Estas estimas están dentro del rango de los valores previamente publicados para este tipo de caracteres (García et al., 2002). Únicamente la estima de la heredabilidad para PD es ligeramente más baja que en estimaciones previas.

En la tabla 2 se muestran los contrastes entre los efectos de línea en el momento de su fundación

Tabla 2. Contrastes entre los efectos de línea en su fundación.

Contraste	Nº AE	PD (g)	PS (g)	GMD (g/d)
A-V	106	16 (18)	64(50)	0.50(1.07)
A-H	26	-41(19)*	-217(51)*	-5.33(1.08)*
V-H	32	-64 (17)*	-281(44)*	-5.44(0.54)*
A-LP	28	-79(22)*	-308(59)*	-7.00(1.25)*
V-LP	28	-134(19)*	-481(52)*	-8.65(1.10)*

* Indica diferencias significativas para $\alpha=0.05$. Error típico entre paréntesis.

Entre las línea LP y H no se han hecho comparaciones, pues únicamente durante dos años estación compartieron el mismo alojamiento. En ninguno de los tres caracteres de crecimiento se han observado diferencias en el origen entre las líneas A y V, mientras que las líneas H y LP eran consistentemente más pesadas en el origen tanto para el peso al destete como para el peso al sacrificio, respecto a las líneas A y V. La diferencia en el peso al sacrificio entre estas líneas se incrementó considerablemente frente al observado al destete porque las líneas H y LP tuvieron, también una ganancia media diaria de peso, superior a las de las líneas A y V.

Feki et al. (1998) obtuvieron valores de peso al destete mayores para la línea A que para la línea V, pero en este caso las diferencias no eran en origen, ni tampoco se corrigió por tamaño de camada en el modelo estadístico. Cifre et al. (1998) compararon en su fundación las líneas H y V y observaron que siempre la línea H era más pesada que la V, y tenía una mayor ganancia diaria de peso; hay que hacer notar que en este caso no se consideró la interacción LAE. Finalmente, Orengo et al. (2009) estimaron las diferencias entre los efectos genéticos directos y maternos entre las líneas A y V, y si a partir de ellos se calculan las diferencias entre los efectos globales de línea, sus estimas son diferentes a las que aquí se presentan. Parece ser que en su caso la línea A fue más pesada que la V, aunque sus

errores son muy grandes, además su comparación se refiere a animales de las generaciones 22 y 25 para A y 19 y 23 para V.

Los resultados obtenidos en este estudio son, además, un paso previo para la validación del modelo genético empleado, en el sentido de que si éste es adecuado, los resultados de una comparación coetánea de animales de distintas líneas (sin usar un modelo genético) podrán predecirse a partir de las estimas de las diferencias entre las líneas en origen y el valor genético de los animales coetáneos en comparación. Ragab y Baselga (2010) usaron este procedimiento para caracteres reproductivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cifre, J., Baselga, M., Garcia-Ximenez, F. & Vicente, J.S. 1998. *J. Anim. Breed. Genet.* 115: 139-147.
- Feki, S., Baselga, M., Blas, E., Cervera, C. & Gómez, E.A. 1998. *Livest. Prod. Sci.* 45: 87-92.
- García, M.L. & Baselga, M. 2002. *Livest. Prod. Sci.* 71:91-98.
- Orengo, J., Piles, M., Rafel, O., Ramon, J. & Gómez, E. A. 2009. *J. Anim. Sci.* 87: 1896-1905.
- Ragab, M. & Baselga, M. 2010. *Livest. Sci.*, doi: 10.1016/j.livsci.2010.09.009.

GROWTH TRAITS COMPARISON AT ORIGIN BETWEEN FOUR MATERNAL RABBIT LINES

ABSTRACT: A comparison was carried out involving four maternal lines of rabbits (A, V, H, LP), founded under different criteria, but all of them selected for litter size at weaning. The objective was to compare growth traits at the origin: weaning weight (WW), slaughter weight (SW) and average daily gain (ADG). 344,608 and 320,801 records were considered for WW, and SW and ADG, respectively. The complete pedigree associated with these data included 346,638 animals. The estimate of the differences between lines at origin for WW, SW and ADG was performed with a univariate linear animal model being the variance components of random factors of this model estimated by EM-REML with a bivariate analysis: WW, SW and ADG with LSW (litter size at weaning). Heritability estimates were 0.09, 0.09, 0.20 and 0.0.20 for LSW, WW, SW and ADG, respectively. LP and H lines are the heaviest both for WW and SW, and growth the faster, when compared to the lines A and V. No significant differences were observed between these two lines (A and V) for any growth trait. The comparisons between lines H and LP have not carried out because they shared the same housing only for two year-seasons. These results will be useful, too, for comparing over time observed differences between lines, to that predicted from the genetic model used here.

Keywords: Growth Traits, Rabbits, Genetic Lines

LONGEVIDAD FUNCIONAL EN UN CRUCE DIALÉLICO ENTRE CUATRO LÍNEAS MATERNALES DE CONEJO

Ragab^{1,2,*}, M., Sánchez¹, J. P., Mínguez¹, C., El Nagar^{1,3}, A. G., y Baselga¹, M.

¹Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, U. Politécnica de Valencia, España.

²Poultry Pro. Depart., Fac. of Agric., Kafr El-Sheikh University, Kafr El-Sheikh, Egypt.

³Animal Pro. Depart., Fac. of Agri. Moshtohor, Banha Univ., Egypt.

moramo@upvnet.upv.es

INTRODUCCIÓN

La longevidad funcional en conejos se ha definido como el tiempo en días entre la primera palpación positiva y la muerte o sacrificio por razones no productivas del animal (Sánchez et al., 2004). Éste es un carácter importante debido a la alta tasa anual de reposición que se da en cunicultura de carne (120%: Ramón y Rafel, 2002). Son numerosos los problemas asociados a una muy elevada tasa de reposición, señalamos los más relevantes: no amortización de parte de las hembras, la producción se sustenta en animales inmaduros y en general, los animales antes de morir o eliminarse pasan por periodos de enfermedad.

Esta carácter tiene una heredabilidad de baja a moderada (Piles et al., 2006b; Sánchez et al., 2008) e igualmente se han observado variaciones genéticas entre líneas (Piles et al., 2006b).

El objetivo de este estudio es determinar las diferencias en cuanto a longevidad funcional entre los distintos tipos genéticos de un cruce dialélico completo entre 4 líneas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos de este estudio proceden de animales de cuatro líneas maternas (A, V, H y LP) y sus cruces recíprocos que son los que forman la población experimental de un estudio dialélico completo que empezó en Septiembre 2008 y aún continúa. Después de su fundación todas las líneas han sido seleccionadas para el tamaño de camada al destete y en el momento del inicio de la experiencia los procesos de selección se encontraban en las generaciones 41, 37, 18 y 5 para las líneas A, V, H y LP (se utiliza en el texto como L), respectivamente. Este experimento se está desarrollando en cuatro granjas, y el total de animales considerados en este estudio (4141) se distribuye entre ellas de la siguiente manera: 802 en Rioseco de Tapia (León) (**LE**), 924 en Altura (Castellón) (**CA**), 1229 en Sant Carles de la Ràpita (Tarragona) (**TA**) y 1198 en UPV (Valencia) (**UPV**). Los manejos son diferentes entre las granjas; CA y LE organizan lotes de inseminación cada 42 días, mientras que UPV y TA hacen lotes de cubrición cada semana. A pesar de esto en todos los casos las hembras se inseminan/montan aproximadamente 12 días después del parto y en todas las granjas, igualmente, se realiza un test de gestación a los 12 días de la cubrición/inseminación, mediante palpación abdominal. El destete tiene lugar a los 28 días de edad de los gazapos. En todas las explotaciones los animales se alimentaron con pienso comercial estándar.

Para analizar los datos se utilizó el programa Survival kit 6.0 (Ducrocq et al., 2010) y en particular el módulo que implementa el modelo de Cox de riesgos proporcionales. Este fue el modelo que se utilizó:

$$h_i(t|\mathbf{x}_i(t)) = h_0(t) \cdot \exp\{NV_i(t) + L_j + GAE_k(t) + OPP_l(t) + EF_m(t)\}$$

Donde, $h_i(t|\mathbf{x}_i(t))$ es el riesgo de muerte asociado al animal i , afectado por las covariables indicadas en el vector $\mathbf{x}_i(t)$, en tiempo t ; $h_0(t)$ es la función del riesgo base; NV_i es el efecto de número de nacidos vivos en cada parto; L_j es el efecto de los distintos tipos genéticos considerados; $GAE_k(t)$ es el efecto de la combinación Granja-Año-Estación; OPP_l es el efecto de las sucesivas palpación positivas que la hembra tiene y EF_m es el efecto de los distintos estados fisiológicos por los que la hembra pasa (gestante/lactante/vacía/gestante & lactante).

Para alcanzar el objetivo de este trabajo, a partir de las estimas de los efectos de los distintos grupos genéticos, se realizaron una serie de contrastes lineales para determinar distintos aspectos de las diferencias observadas entre los tipos genéticos considerados. I) Las diferencias entre cada dos líneas que se utilizaron para producir los animales cruzados. II) Las diferencias entre los cruces recíprocos para determinar si una línea es preferible

utilizarla como madre o padre de las cruzadas. II) La diferencia entre el promedio de los cruzados y de los puros, para determinar si se aprecia una mayor longevidad en los primeros, como sería de esperar como consecuencia de la heterosis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de animales analizados, 1289 (31.04%) fueron censurados: continuaban vivos o se eliminaron por cuestiones de manejo, y para ellos su vida media fue de 344 días. El grupo de animales no censurados tuvo una vida media de 180 días.

En la tabla 1 se muestran las diferencias entre las estimas de riesgo para los 6 contrastes entre las líneas involucradas en el experimento. En estos contrastes de riesgo las diferencias representan la vulnerabilidad o resistencia de los animales a los distintos factores que pueden determinar su muerte o eliminación, por lo tanto son inversamente proporcionales a las diferencias en longevidad.

Tabla 1. *Contrastes entre las líneas para el riesgo.*

Grupo	Contraste±SE	X ²	P value
AA vs VV	0.28±0.08	11.81	0.001
AA vs HH	-0.11±0.12	0.76	0.385
AA vs LL	0.18±0.08	5.51	0.019
VV vs HH	-0.38±0.10	15.74	0.000
VV vs LL	-0.09±0.08	1.29	0.257
HH vs LL	0.30±0.12	5.95	0.015

X²: Chi-Square

Claramente la línea A tiene una menor capacidad para superar los distintos factores de riesgo a que se pueda exponer, ya que las diferencias entre las estimas de esta línea con las de la V y la LP son significativas. Lo mismo ocurre para la línea H, mientras que entre la línea V y LP no se aprecian diferencias en el riesgo. Piles et al. (2006a) observaron una diferencia entre los efectos genéticos directos de las líneas A y V de una magnitud muy similar a la obtenida en este estudio (0.29), que en su caso no fue significativa. Respecto a las diferencias entre la línea V y L, Sánchez et al. (2008) encontraron un ligero menor riesgo asociado a la línea L, y estas diferencias se establecían fundamentalmente al final de la vida de los animales.

La tabla 2 muestra las diferencias entre las estimas del riesgo asociados a los cruces recíprocos. Únicamente son significativos los contrastes entre los cruces AL y LA a favor de LA y entre VH y HV a favor de HV.

Tabla 2. *Contrastes entre cruces recíprocos para el riesgo.*

Grupo	Contraste±SE	X ²	P value
AV vs VA	0.09±0.15	0.33	0.564
AH vs HA	-0.24±0.14	2.66	0.103
AL vs LA	0.33±0.15	4.89	0.027
VH vs HV	0.29±0.14	4.48	0.034
VL vs LV	0.08±0.16	0.24	0.623
HL vs LH	0.14±0.15	0.84	0.360

X²: Chi-Square

Los contrastes entre el promedio de los cruzados y el de las líneas de las que éstos proceden se muestran en la tabla 3. Se aprecia que en general, como cabría esperar, los cruces tienen asociado un menor riesgo y por tanto una mayor longevidad funcional que las líneas de las que éstos proceden. Estas diferencias fueron significativas para todos los cruces salvo entre los de las líneas A y H y entre los de las líneas A y LP.

Tabla 3. Contrastes entre cruzados frente a las líneas para el riesgo.

Grupo	Contraste±SE	X ²	P value
AV+VA vs AA+VV	-0.26±0.11	5.39	0.015
AH+HA vs AA+HH	-0.22±0.12	3.45	0.063
AL+LA vs AA+LL	-0.17±0.12	2.16	0.142
VH+HV vs VV+HH	-0.22±0.11	4.29	0.038
VL+LV vs VV+LL	-0.31±0.11	8.48	0.004
HL+LH vs HH+LL	-0.39±0.12	10.82	0.001

X²: Chi-Square

Estos resultados reflejan la gran variabilidad en tolerancia a factores de riesgo que se observan entre los distintos grupos genéticos considerados en este experimento y son de interés para el sector cunícola pues permiten identificar los tipos genéticos más apropiados para tratar de reducir la elevada tasa de reposición que a día de hoy se da en cunicultura. En este sentido los animales cruzados procedentes de las líneas V y LP serían los más recomendables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Ducrocq, V., Sölkner, J. & Mészáros, G. 2010. <http://www.nas.boku.ac.at/1897.html>. • Piles, M., Sánchez, J. P., Orengo, J., Rafel, O., Ramon, J. & Baselga, M. 2006a. J. Anim. Sci. 84:58-62. • Piles, M., Garreau, H., Rafel, O., Larzul, C., Ramon, J. & Ducrocq, V. 2006b. J. Anim. Sci. 84:1658-1665. • Ramón, J. & Rafel, O. 2002. 1991–2000. Expoaviga 2002, X jornada cunícola, Barcelona, pp. 113–117. • Sánchez, J.P., Baselga, M., Peiró, R. & Silvestre, M.A. 2004. Livest. Prod. Sci. 90:227–234. • Sánchez, J.P., Theilgaard, P., Mínguez, C., Baselga, M. 2008. J. Anim. Sci. 86, 515–525.

FUNCTIONAL LONGEVITY IN DIALLEL CROSS BETWEEN MATERNAL LINES OF RABBIT

ABSTRACT: A diallel cross was carried out involving four maternal lines of rabbit (A, V, H and LP (L) lines). The lines considered have been selected for litter size at weaning. The objective was to determine differences in functional longevity between the genetic types involved in the experiment, trying to get indications of variation between the sixteen genetic groups. This trait was defined as the number of days between the first positive palpation and the death or culling of the doe; it represents the ability to delay involuntary culling. A total of 4141 longevity records were obtained from September 2008 to January 2011 and were analysed with the Survival kite 6.0 using a fixed effects Cox proportional hazard model. The model incorporated time-dependent factors, such as Farm-year-season, number born alive, order of positive palpation and physiological status of the female; as well as the time-independent factor of the genetic type of the doe. Lines A and H have a similar ability to avoid risk factors and they both are more sensitive to these factors than lines V and LP. The differences between crosses and its reciprocal were generally not significant. The estimated heterotic effects, average of crossbreds minus average of purebreds, showed the importance of using crossbreds between specialized lines to produce the does for intensive meat rabbit production, as the risk associated to purebreds is higher than that to crossbreds.

Keywords: maternal lines, diallel cross, Longevity, Survival analysis

PARÁMETROS GENÉTICOS DEL PESO AL NACIMIENTO Y DE SU VARIABILIDAD AMBIENTAL EN UN EXPERIMENTO DE SELECCIÓN DIVERGENTE PARA VARIABILIDAD DEL PESO AL NACIMIENTO EN RATONES.

Pun, A.¹, Cervantes, I.¹, Nieto, B.¹, Salgado, C.¹, Pérez-Cabal, M.A.¹ y Gutiérrez, J.P.^{1*}

¹Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM. Avda. Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid. Email: apun@vet.ucm.es

INTRODUCCIÓN

La selección genética ha sido exitosa en determinados caracteres de alto valor económico que se han visto frecuentemente acompañados de un empeoramiento de la funcionalidad (Poignier et al., 2000) En estos casos, la selección por menor variabilidad dentro de un óptimo podría ser interesante y ha sido estudiada en varios experimentos (Garreau et al., 2008; Schneiner et al., 1991). La selección genética basada en valores genéticos precisa la estimación de los correspondientes parámetros genéticos. Los valores genéticos del carácter y de su variabilidad pueden estar relacionados en mayor o menor medida. El objetivo de este trabajo fue estimar los parámetros genéticos asociados al peso al nacimiento y su variabilidad en un experimento de selección divergente para variabilidad del peso al nacimiento en ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado los datos obtenidos en un experimento de selección divergente para variabilidad de peso al nacimiento (PN) en ratones (Nieto et al., 2010) en el que se establecieron dos líneas divergentes escogiendo como padres y madres los individuos con mejor (mayor o menor según la línea) valor genético aditivo para variabilidad del PN previa valoración genética. Los candidatos a la selección son evaluados mediante el cruce con individuos de la línea consanguínea Balb/c midiéndose el PN de sus descendientes. Tanto los PN del período de evaluación como los del núcleo fueron utilizados, sumando un total de 6271 datos correspondientes a 8138 registros de pedigrí.

El modelo empleado ha sido el propuesto por SanCristobal et al. (2008), en el que se asume que la varianza ambiental es heterogénea y parcialmente bajo control genético. Tanto para el carácter como para su variabilidad ambiental se ajustaron como efectos fijos el tamaño de camada (16 niveles), sexo (3 niveles, macho, hembra y desconocido) y período de parto (9 niveles incluyendo tanto los períodos de nacimiento durante el proceso de evaluación como en el núcleo) y como efectos aleatorios el efecto genético aditivo y el efecto de camada además del residuo.

Se realizó una estimación de parámetros inicialmente bajo el modelo clásico que asume varianzas homogéneas utilizando el programa TM (Legarra et al., 2008). Posteriormente se utilizó el programa GSEVM (Ibáñez-Escriche et al., 2010) para resolver el modelo de varianza heterogénea en su formato libre así como una versión en la que se fuerza la correlación genética entre el carácter y su variabilidad ambiental a un valor nulo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra las medias de las distribuciones posteriores de los parámetros genéticos bajo los modelos de varianza homogénea y heterogénea forzando o no la correlación genética a cero. La heredabilidad del PN bajo el modelo de varianzas homogéneas fue de 0,103 con una desviación estándar de 0.032 lo que supone un valor bajo para este tipo de carácter. El resultado obtenido para la correlación genética bajo el modelo de varianzas heterogéneas mostró una asociación prácticamente completa entre el carácter y su variabilidad ambiental. Gutiérrez et al. (2006) mostraron cómo la asimetría de las distribuciones de los residuos proporcionaba información sobre el signo de la correlación genética. Yang (2010) mostró que estas distribuciones asimétricas de los datos podrían conducir a estimaciones de correlaciones genéticas en realidad inexistentes como consecuencia de artefactos del modelo. Dado que una correlación genética tan elevada condicionaría el valor genético para la variabilidad por el propio valor del carácter y que los datos proceden de un experimento de selección para la variabilidad, se realizó una segunda estimación en la que se forzaba esta correlación a un valor nulo. La Figura 2 muestra los valores genéticos del carácter frente a los de su variabilidad calculados dejando una

correlación libre y forzando la correlación a cero. Se observa cómo la dependencia de los valores genéticos para variabilidad con respecto a los del carácter se rompe en el segundo caso, en el que el resto de los parámetros no sufrió modificaciones relevantes.

La figura 3 representa la distribución de los errores estimados con el modelo de varianza homogénea. Se observa que la apariencia de la distribución es simétrica. Por lo tanto la correlación próxima a -1 entre los valores genéticos del PN y de su variabilidad no parece ser debida a una distribución asimétrica de los residuos. Estudios sobre las distribuciones posteriores del momento de tercer orden de la distribución parecen necesarios para poder extraer conclusiones más firmes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Garreau, H., Bolet, G., Larzul, C., Robert-Granié, C., Saleil, G., SanCristobal, M. & Bodin, L. 2008. Results of four generations of a canalising selection for rabbit birth weight. *Livest. Sci.* 119: 55-62.
- Gutiérrez, J.P., Nieto, B., Piqueras, P., Ibáñez, N. & Salgado, C. 2006. Genetic parameters for canalisation analysis of litter size and litter weight traits at birth in mice. *Genet. Sel. Evol.* 38: 445-462.
- Nieto, B., Salgado, C., Cervantes, I., Pérez-Cabal, M.A. & Gutiérrez, J.P. 2010. First results from a divergent selection experiment for environmental variability of birth weight in *mus musculus*. 61st annual meeting of the european association for animal production (EAAP), Heraklion, Crete, Greece 23-26 August.
- Poignier, J., Szendrő, Z.S., Levai, A., Radnai, I. & Biro-Nemeth, E. 2000. Effect of birth weight and litter size on growth and mortality in rabbit. *World Rabbit Sci.* 8: 103-109.
- SanCristobal-Gaudy, M., Elsen, J.M., Bodin, L. & Chevalet, C. 1998. Prediction of the response to a selection for canalisation of a continuous trait in animal breeding. *Genet. Sel. Evol.* 30: 423- 451.
- Schneiner, S.M. & Lyman, R.F. 1991. The genetics of phenotypic plasticity. II. Response to selection. *J. Evol. Biol.* 4: 23-50.
- Yang, Y. 2010. The genetic of environmental variance. Doctoral Thesis. Aarhus University. Denmark.

Tabla 1. Media de las distribuciones posteriores, con su desviación estándar entre corchetes, de los parámetros genéticos bajo los modelos de varianza homogénea y heterogénea forzando o no la correlación genética a cero. σ^2_u y $\sigma^2_{u^*}$: varianza genética del carácter y de su variabilidad; σ^2_c y $\sigma^2_{c^*}$: varianza del efecto aleatorio camada para el carácter y su variabilidad ambiental; ρ correlación entre los correspondientes valores genéticos.

	σ^2_u ($\times 10^3$)	σ^2_c ($\times 10^3$)	ρ	$\sigma^2_{u^*}$	$\sigma^2_{c^*}$
TM	4.045 [1.301]	18.48 [1.195]	-	-	-
GSEVM	16.21 [0.724]	20.95 [1.361]	-0.980 [0.0157]	1.542 [0.2303]	0.743 [0.1194]
GSEVM r0	13.71 [0.243]	20.42 [1.058]	0 [0]	1.732 [0.1741]	0.652 [0.0728]

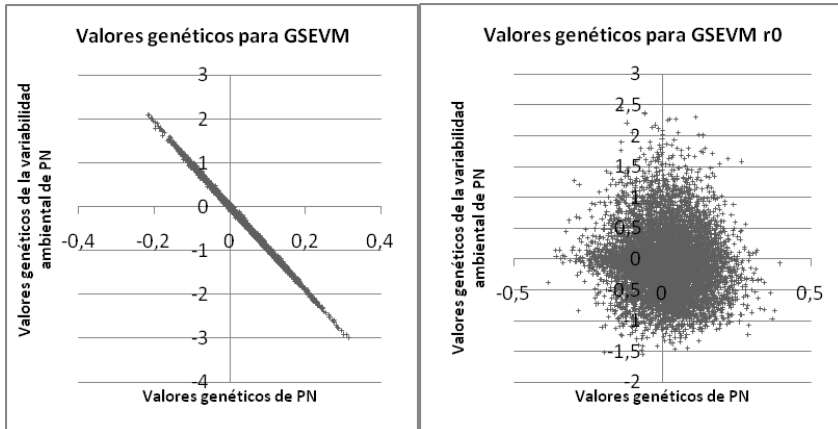


Fig.2a

Fig.2b

Figura 1. Valores genéticos del PN y de su variabilidad ambiental calculados con el modelo de varianzas heterogéneas con una correlación entre ambos libre (fig.2a) y con una correlación forzada a cero (fig.2b).

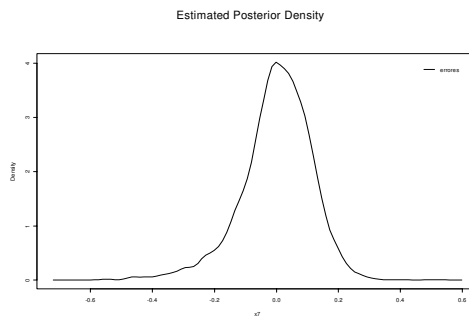


Figura 2. Distribución posterior de los residuos calculados tras la valoración genética con el modelo de varianza homogénea.

GENETIC PARAMETERS FOR BIRTH WEIGHT AND ITS ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN A DIVERGENT SELECTION EXPERIMENT FOR BIRTH WEIGHT VARIABILITY IN MICE.

ABSTRACT: Genetic parameters for birth weight trait and its variability were estimated using both homogeneous and heterogeneous variance models using data coming from a divergent selection experiment for birth weight variability in mice. 6271 records for the trait and 8138 for the pedigree were used. The model included period of birth, litter size and sex as fixed effects and the litter and additive genetic effect as random effects besides the residual. The genetic correlation found between the trait and its variability was extremely high and negative suggesting an artefact of the model. A model considering null the genetic correlation was carried out providing similar values for the rest of the parameters. A distribution of the residuals under the homogeneous model drawn to check skewness in the distribution showed it was no relevant. Further research is needed.

Keywords: Canalisation, mice, selection experiment, genetic correlation.

ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DEL CROMOSOMA Y EN LAS SEIS RAZAS ASNALES ESPAÑOLAS PARA TRES MARCADORES MICROSATÉLITE

Ferrando, A., Casas, M. y Jordana, J.¹

¹ Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V; 08193-Bellaterra (Barcelona). Jordi.Jordana@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los marcadores nucleares autosómicos y los mitocondriales han sido los más ampliamente utilizados para estudios filogenéticos, filogeográficos y en todo lo referente a los procesos de domesticación de las especies domésticas. El análisis de la variabilidad del cromosoma Y también ha sido utilizado, aunque en menor medida, para trazar la historia de los linajes paternos en muchas de estas especies (ver por ejemplo, Kantanen et al., 2009; Meadows et al., 2006; Wallner et al., 2004). Sin embargo, existen pocos datos sobre la diversidad del cromosoma Y en el asno doméstico (*Equus asinus*). Wallner et al. (2004) identificaron seis loci microsatélite específicos de la región no recombinante del cromosoma Y (Eca.YH12, Eca.YA16, Eca.YP9, Eca.YM2, Eca.YE1, Eca.YJ10) en caballos domésticos (*Equus caballus*). No obstante, no detectaron ningún polimorfismo tras analizar 32 razas equinas. Estos autores amplificaron con éxito tres de esos marcadores (Eca.YE1, Eca.YM2 y Eca.P9) en otras especies equinas –incluida el asno–, detectando polimorfismos inter-específicos, así como algunos polimorfismos intra-específicos. En la especie que nos ocupa, el asno, hallaron la existencia de al menos dos haplotipos, por la presencia de dos alelos en el locus Eca.YM2.

Dado que ese estudio sólo incluía muestras de tres asnos, el objetivo del presente trabajo ha sido explorar la diversidad existente en los loci Eca.YE1, Eca.YM2 y Eca.YP9 en un número mayor de individuos, incluyendo machos de las seis razas asnales españolas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de 75 machos de las siguientes razas asnales: Andaluza (N=4), Balear (N=10), Catalana (N=27), Asno de las Encartaciones (N=6), Majorera (N=18) y Zamorano-Leonesa (N=10). En los casos en los que se disponía de registros genealógicos de los machos muestreados, se escogieron aquéllos procedentes de diferentes familias paternas.

Se amplificaron los loci microsatélite, de tipo dinucleotídico, Eca.YE1, Eca.YM2 y Eca.YP9 (GenBank Acc. No. BV005725-7) de la parte no recombinante del cromosoma Y con los marcadores descritos por Wallner et al. (2004). Los loci Eca.YM2 y Eca.YP9 fueron amplificados en una misma reacción en cadena de la polimerasa (PCR-1) mientras que Eca.YE1 fue amplificado por separado (PCR-2). Las PCRs incluyeron 1x buffer, 2 mM de MgCl₂, 0.125 mM de cada dNTP, 0.084-0.117 µM de cebadores, 0.3 U (PCR-1) o 0.75 U (PCR-2) de AmpliTaq Gold® (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y 60 ng de ADN, en un volumen final de 15 µl. Los cebadores incluyeron un marcaje con un fluorocromo (NED o 6-FAM). Los programas de los termocicladores, para ambas PCRs, empezaron con una desnaturalización de 10 minutos a 95°C. La PCR-1 continuó con 10 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos de hibridación a 62°C y descendiendo 1°C por ciclo, y 1 minuto a 72°C, seguidos de 25 ciclos adicionales de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 52°C y 1 minuto a 72°C. En cambio, la PCR-2 continuó con 35 ciclos de 30 segundos a 95°C, 40 segundos a 59°C y 90 segundos a 72°C. Ambos ciclos de amplificación finalizaron con un paso a 72°C durante 30 minutos. Los productos de PCR amplificados fueron separados por electroforesis en un secuenciador automático ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems), incluyendo un marcador interno de tamaño de los fragmentos. El tamaño de los alelos fue analizado con el programa GeneMapper v.3.7 (Applied Biosystems). Todas las amplificaciones incluyeron DNA control de una hembra para verificar la posible presencia de fragmentos amplificados inespecíficos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los 75 machos analizados presentaron el mismo alelo para los loci Eca.YE1 (191 pb) y Eca.YP9 (196 pb). En cambio, se detectó un polimorfismo en el locus Eca.YM2, con dos

alelos posibles. Los dos alelos se diferenciaron en dos pares de bases (Figura 1), que se corresponden con una unidad repetitiva del microsatélite. Casi todos los machos presentaron el mismo haplotipo, caracterizado por la presencia del alelo de 110 pb en el locus Eca.YM2, excepto un individuo de la raza Asno de las Encartaciones que tenía el alelo de 112 pb (ver Tabla 1).

Wallner et al. (2004) también detectaron un solo polimorfismo en el locus Eca.YM2 entre los tres asnos de su estudio. Probablemente se trate de los dos mismos alelos detectados en los asnos españoles, aunque sería necesaria una muestra control para confirmarlo. Ling et al. (2010) lograron amplificar los seis loci microsatélite del cromosoma Y descritos por Wallner et al. (2004) en 30 machos de asno doméstico procedentes de China. Sin embargo, todos ellos presentaron el mismo haplotipo.

Es posible que la variabilidad del cromosoma Y de los asnos domésticos sea baja, como consecuencia de una pérdida de diversidad durante el proceso de domesticación. No obstante, tal y como sugieren Wallner et al. (2004) en los caballos, no se puede descartar que la baja variabilidad sea debida a un barrido selectivo. Cualquier presión selectiva en uno de los genes de la región no recombinante del cromosoma Y afecta a la variabilidad del resto de loci ligados a él. Será preciso analizar un mayor número de loci específicos de cromosoma Y así como de asnos domésticos en un rango geográfico más extenso para definir si esta baja variabilidad es generalizada, tanto a lo largo del cromosoma Y como en el conjunto de la especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kantanen, J., Edwards, C. J., Bradley, D. G., Viinalass, H., Thessler, S., Ivanova, Z., Kiselyova, T., Činkulov, M., Popov, R., Stojanović, S., Ammosov, I. & Vilki, J. 2009. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*). *Heredity* 103: 404-415
- Ling, Y., Ma, Y., Guan, W., Cheng, Y., Wang, Y., Han, J., Jin, D., Mang, K. & Mahmut, H. 2010. Identification of Y chromosome genetic variations in Chinese indigenous horse breeds. *J. Hered.* 101: 639-643
- Meadows, J. R. S., Hanotte, O., Drögemüller, C., Calvo, J., Godfrey, R., Coltman, D., Maddox, J. F., Marzanov, N., Kantanen, J. & Kijas, J. W. 2006. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep. *Anim. Genet.* 37: 444-453
- Wallner, B., Piumi, F., Brem, G., Müller, M. & Achmann, R. 2004. Isolation of Y chromosome-specific microsatellites in the horse and cross-species amplification in the genus *Equus*. *J. Hered.* 95: 158-164.

Agradecimientos: Agradecemos el soporte recibido por parte del *Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural (DAR)* de la Generalitat de Catalunya, para la realización de estos estudios.

Tabla 1. Haplotipos del cromosoma Y en las seis razas asnales españolas para tres marcadores microsatélite. N, número de machos.

Raza	N	Haplotipos (tamaño de los alelos en pares de bases)			Porcentaje
		Eca.YM2	Eca.YE1	Eca.YP9	
Andaluza	4	110	191	196	100%
Balear	10	110	191	196	100%
Catalana	27	110	191	196	100%
Asno de las Encartaciones	5	110	191	196	83,3%
Majorera	1	112	191	196	16,6%
Zamorano-Leonesa	18	110	191	196	100%
TOTAL	74	110	191	196	98,6%
	1	112	191	196	1,4%

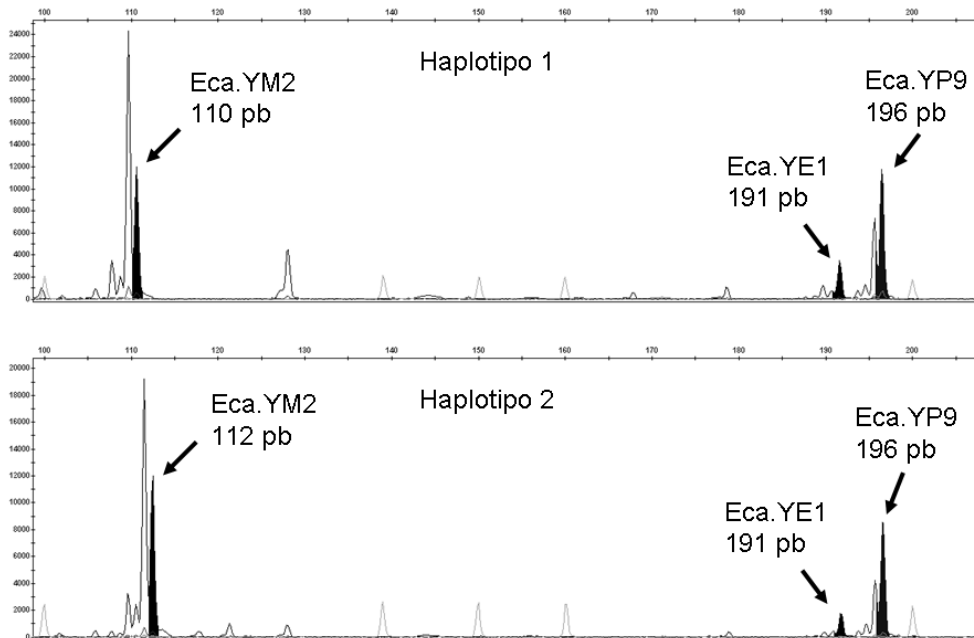


Figura 1. Análisis del tamaño de los alelos de los tres marcadores microsatélite en dos individuos. Se puede observar la presencia de dos haplotipos definidos por la existencia de un polimorfismo en el locus Eca.YM2.

ANALYSIS OF Y CHROMOSOME GENETIC VARIABILITY OF SIX SPANISH DONKEY BREEDS WITH THREE MICROSATELLITE MARKERS

ABSTRACT: Y chromosome markers have been used in large studies about domestication in different species such as cattle, sheep and horses. However, there is little information about genetic variability of the Y chromosome of domestic donkey. In this study we analysed three microsatellite markers (Eca.YM2, Eca.YE1 and Eca.YP9) from the non-recombinant region of the Y chromosome of 75 males from six Spanish donkey breeds. We found a polymorphism at locus Eca.YM2, with the presence of two alleles. Thus, only two different haplotypes were detected among the three loci. All but one individual, a male from the “Asno de las Encartaciones” breed, shared the same haplotype.

Keywords: *Equus asinus*, STR.

POSIBLE ORIGEN MATERNO COMÚN DE DOS POBLACIONES DE GALLINAS: RESULTADOS PRELIMINARES DEL ANÁLISIS DEL ADN MITOCONDRIAL

Grimal A.¹, Viudes de Castro M.P.¹, Gómez E.A.¹, Goyache F.² y Royo L.J.²

¹Centro de Tecnología Animal. CITA-IVIA. Segorbe (Castellón)

²Centro de Biotecnología Animal-Deva. Serida. Gijón (Asturias)

amgrimo@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La gallina es una de las especies de animales domésticos más representadas en el mundo. Descubrimientos arqueológicos en India y China sugieren que las gallinas se domesticaron a partir del Red Jungle Fowl (*Gallus gallus*) con 5 subespecies como posibles progenitores: *G. g. gallus* en Tailandia y regiones, *G. g. spadiceus* en Birmania y la provincia china de Yunan, *G. g. Jabouillei* en el sur de China y el Vietnam, *G. g. murghi* en la India y *G. g. bankiva* en la Isla de Java. Sin embargo, todavía no está claro cuántas subespecies han contribuido al origen de los pollos. Un estudio previo (Liu et al., 2006) analizando 834 muestras de pollos domésticos (*G. g. domesticus*) y 66 muestras de Red Jungle Fowl (*G. g. gallus*) sugiere un múltiple origen materno en los pollos domésticos y que la domesticación ocurrió en, al menos, tres regiones del sur y el sureste de Asia. Este estudio encontró 169 haplotipos que se agruparon en 9 clados divergentes (A-I), sin encontrar un clado específico de población. Tradicionalmente, los ganaderos han clasificado a las diferentes razas de ganado según su tronco. En España, se diferencia entre gallinas de tronco atlántico (haciendo referencia a animales de mayor formato) y de tronco mediterráneo (con ejemplares más ligeros). Estas diferencias entre poblaciones se han observado al estimar distancias genéticas con marcadores microsatélites (Dávila et al., 2009), si bien no se ha investigado el origen de las poblaciones españolas a nivel mitocondrial. El objetivo de nuestro trabajo es un análisis preliminar del ADN mitocondrial de dos razas españolas bien diferenciadas fenotípicamente, la Gallina Valenciana de Chulilla (tronco mediterráneo) y la Pita Pinta Asturiana (tronco atlántico), y su inclusión dentro de los 9 clados descritos en la bibliografía.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre de dos poblaciones españolas, 20 de la Gallina Valenciana de Chulilla, de tronco mediterráneo, y 15 de la Pita Pinta Asturiana, de tronco atlántico. Se extrajo el DNA y se amplificó la región hipervariable HVS-I usando los primers L16750 (5'-AGGACTACGGCTTGAAAAGC-3', (Fumihito et al., 1994)) y H522 (5'-ATGTGCCTGACCAGGAACCAG-3', (Fu et al., 2001)). Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen final de 20 µl [Buffer 10x, 20 mM Cl₂Mg, 2 mM dNTP, 0,5µM de cada primer, 1 U/µl de Taq polimerasa], con 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 58°C y 1 minuto a 72°C, con un ciclo final de extensión de 10 minutos a 72°C. En un gel de Agarosa al 2% se seleccionaron las muestras que habían amplificado, se purificaron los productos de PCR con Exosap (Farmacia), se secuenciaron empleando ABI Prism® BigDye® Terminator v3-1 Cycle Sequencing Kit (ABI Applied Biosystems) y se volvieron a purificar antes de realizar la electroforesis en un secuenciador automático ABI310. Las secuencias fueron analizadas y editadas utilizando Sequencing Analysis (Applied Biosystems). Se incluyeron secuencias del GenBank, procedentes de 66 individuos incluidos en el trabajo de Liu et al. (2006) como referencia de los 9 clados descritos. Con el paquete Clustal de Mega 4.0 (Tamura et al., 2007) se alinearon las secuencias de las dos poblaciones españolas con las del GenBank y se obtuvo un árbol unrooted neighbor-joining (NJ) con el modelo kimura-2-parámetros. Utilizando sólo las muestras de las poblaciones españolas, con DnaSP (Rozas et al., 2003) se obtuvieron los haplotipos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se muestra la distribución de nuestras poblaciones dentro de los 9 clados encontrados por Liu et al. (2006). Se obtuvieron 35 secuencias mtDNA de la región HVS-I pertenecientes a las dos poblaciones fenotípicamente diferenciadas. Se identificaron un total de 25 sitios polimórficos, 14 en la Gallina Valenciana de Chulilla (CHU) y 21 en la Pita Pinta Asturiana (PIT). Las 35 secuencias dieron un total de 14 haplotipos (Tabla 1), 4 fueron exclusivos de individuos CHU y 9 de PIT, habiendo solo un haplotipo con individuos pertenecientes a las dos poblaciones (Tabla 1). Ello indica una mayor diversidad en la

población de Pita Pinta Asturiana, puesto que, aún empleando menos individuos, se encontraron más orígenes maternos que en la Gallina Valenciana de Chulilla en la que el 85% de las muestras compartían dos haplotipos.

Estos haplotipos se enmarcan mayoritariamente en el clado E de entre los 9 descritos por Liu et al. (2006), aunque algunos individuos aparecen en los clados A y C. Según el estudio de Liu et al. (2006), el clado H sólo contenía muestras de Red Jungle Fowl mientras que el C estaba sólo compuesto por razas domésticas. En el resto aparecen muestras tanto de Red Jungle Fowl como de razas domésticas, apareciendo el 33,3% de los Red Jungle Fowl dentro del clado D. A pesar de no haber un clado específico de raza, encontraron cierta distribución regional en los clados. Los clados A y B se distribuyeron principalmente en el Sur de China y Japón, apareciendo dos ejemplares de CHU y uno de PIT, éste último correspondiente a un fenotipo abedul. El clado E es el predominante en Europa, lo que concuerda con nuestros resultados puesto que el 88,6% de nuestras muestras son asignadas a este clado. Curiosamente, aparece un animal PIT en el clado C que está representado por animales de dos provincias de China y de Japón.

La diversidad nucleotídica (π) conjunta fue de 0,0082, siendo de 0,0052 en la Gallina Valenciana de Chulilla y de 0,00997 en la Pita Pinta Asturiana, lo que sigue corroborando la mayor diversidad de esta última población. Estos valores son similares a los obtenidos por Liu et al. (2006), que encontraron valores de π entre clados que iban de 0,0018 a 0,0109. Ello parece indicar que, al igual que ocurrió al analizar la Gallina Valenciana de Chulilla con marcadores microsatélites (Grimal et al., 2007), se aprecia que su variabilidad genética es reducida, pero los valores son del mismo orden que en otras poblaciones bien establecidas, probablemente indicando los altos niveles de consanguinidad a los que se han sometido las poblaciones de gallinas. Se concluye que, a pesar de que los criadores hablan tradicionalmente de gallinas de tronco mediterráneo y de tronco atlántico, ambas parecen tener un origen materno común, aunque deberíamos realizar un muestreo mucho más amplio, incluyendo más poblaciones de gallinas españolas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dávila, S.G., Gil, M.G., Resino-Talaván, P. & Campo, J.L. 2009. Poultry Sci. 88:2518-2525.
- Fu, Y., Niu, D., Luo, J., Ruan, H., He, G.-Q. & Zhang, Y.-P. 2001. Acta Genet. Sin. 28:411-417.
- Fumihito, A., Miyake, T., Sumi, S., Takada, M., Ohno, S. & Kondo, N. 1994. Proc. Natl. Acad. Sci. 91: 12505-12509.
- Grimal, A., Viudes de Castro, M.P., Vicente, J.S. & Gómez, E.A. 2007. ITEA 28(II):432-434.
- Liu, Y.P., Wu, G.S., Yao, Y.G., Miao, Y.W., Luikart, G., Baig, M., Beja-Pereira, A., Ding, Z.L., Palanichamy, M.G. & Zhang, Y.P. 2006. Mol. Phylog. Evol. 38:12-19.
- Rozas, J., Sánchez-Del Barrio, J.C., Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. Bioinformatics 19:2496-2497.
- Tamura, K., Dudley, J., Nei, M. & Kumar, S. 2007. Mol. Biol. Evol. 24:1596-1599.

Tabla 1: Haplotipos encontrados en 35 secuencias de mtDNA de dos poblaciones españolas y el clado en el que se enmarcan según Liu et al. (2006).

Haplotipo	N	Individuos	Clado
1	4	Chulilla (335; 253; 254; 329)	E
2	15	Chulilla (249; 250; 251; 252; 255; 258; 327; 328; 330; 331; 332; 334;305) Pinta (R-347; Ng-371)	E
3	1	Chulilla (257)	A
4	1	Chulilla (326)	A
5	1	Chulilla (286)	E
6	1	Pinta (R-348)	E
7	3	Pinta (R-349; R-353; Bl-373)	E
8	1	Pinta (R-354)	E
9	1	Pinta (N-356)	E
10	1	Pinta (N-357)	E
11	3	Pinta (N-360; N-363; N-365)	E
12	1	Pinta (N-362)	E
13	1	Pinta (N-364)	C
14	1	Pinta (Ab-372)	A

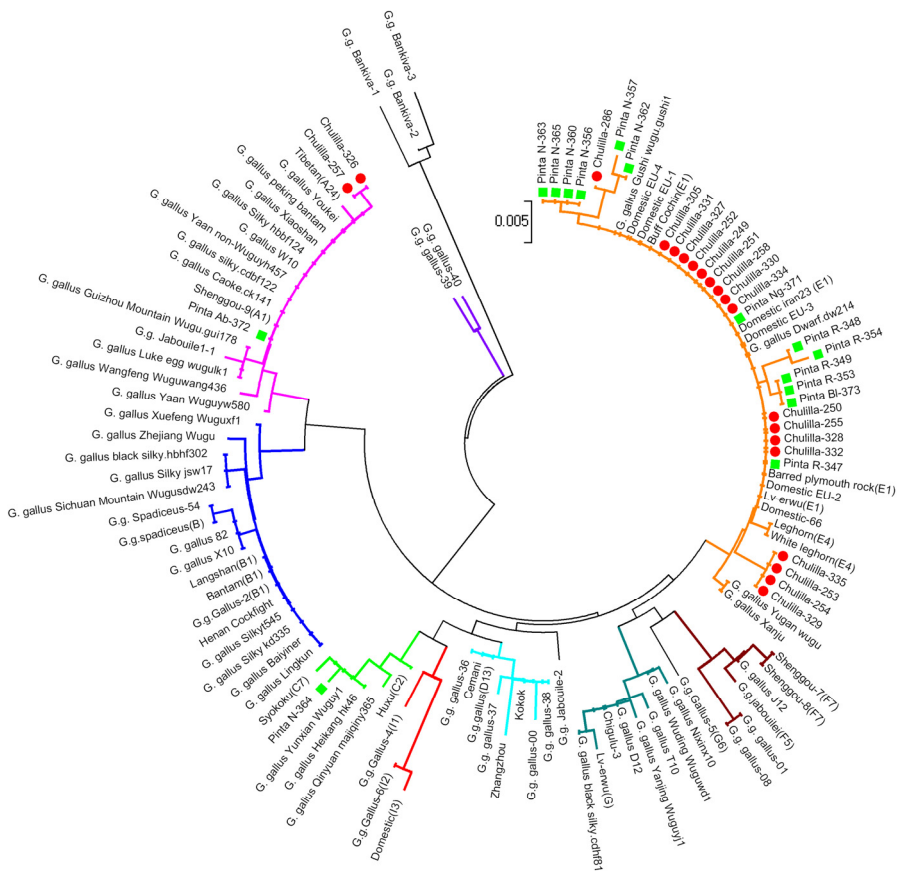


Figura 1: Árbol NJ enmarcando las dos poblaciones españolas en los 9 clados descritos por Liu et al. (2006).

POSSIBLE COMMON MATERNAL ORIGIN OF TWO HEN POPULATIONS: PRELIMINARY RESULTS OF MITOCHONDRIAL DNA ANALYSIS.

ABSTRACT: Traditionally farmers refer to Mediterranean and Atlantic stocks to differentiate between populations in order to guarantee the different origins of the breeds. The most probable wild progenitor of the domestic chicken belongs to the genus *Gallus*. Archaeological discovers suggest that chickens were probably domesticated from the Red Jungle Fowl (*Gallus gallus*). Previous phylogenetic analyses with 834 domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*) by analysing the mitochondrial DNA hypervariable segment I (HVS-I) revealed nine highly divergent mtDNA clades, with no breed-specific clade. Twenty Chullilla hens, belonging to a Mediterranean stock and fifteen Pita Pinta Asturiana hens belonging to an Atlantic stock were studied. HVS-I was sequenced, analysed and compared with GenBank sequences in order to ascribe the individuals to one of the nine clades. The 35 sequences gave 22 haplotypes. Mostly, both breeds clustered in clade E, as observed in other domestic European populations. This preliminary study reveals the same maternal origin from those breeds, spite their phenotypic differentiation.

Keywords: mitochondrial DNA, haplotype, genetic resources, chicken.

ESTUDIOS GENÉTICOS MEDIANTE MICROSATÉLITES EN EL PAVO OSCENSE.

Monteagudo, L.V.², Avellanet, R.¹, Tejedor, M.T.² y Azón, R¹.

¹ Apabos (Asociación de Criadores de Pavo Oscense)

²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013-ZARAGOZA. E-mail: monteagu@unizar.es

INTRODUCCIÓN

En el Alto Aragón, existió la tradición de criar pavos en régimen extensivo, en bandos que, generalmente, pastoreaban los niños por prados y rastrojos. Esta modalidad de cría, que se mantuvo hasta hace unos 50 años, fue desapareciendo, quedando arrinconada también la población local de pavos. En el año 2001 se localizaron los últimos núcleos de estas aves, en varias comarcas de Huesca.

Se trata de un pavo de tipo antiguo y ligero, que ha sorprendido por su buen nivel de puesta y sus aptitudes maternales, tanto a la hora de incubar como a la de cuidar la pollada. El plumaje se asemeja mucho al de su antecesor silvestre americano, especialmente el de los pavipollos, de tipo críptico. La población actual presenta dos variedades de color: cobriza y plateada.

Es difícil cuantificar sus efectivos, aunque no superan los 250 reproductores. El grueso de la población está en manos de criadores de las comarcas de Hoya de Huesca, Monegros y Sobrarbe, así como en Zaragoza y Cataluña. El presente trabajo responde al Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre (BOE del 27 de enero de 2009), por el que se establece el Programa Nacional de Conservación, Mejora y Fomento de las razas ganaderas y se fijan las normas básicas para abordar esta tarea y para redactar y aplicar los Planes de conservación y mejora de las razas en peligro de extinción. Con el objetivo de evaluar los niveles de variabilidad genética y de consanguinidad existentes en la población actual, la relación genética entre las diferentes explotaciones, y la posibilidad de identificar los diferentes individuos, hemos abordado el estudio en la misma de 10 marcadores genéticos microsatélites, en el que creemos primer estudio de estas características en esta especie en España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras estériles de sangre de 36 animales de la variedad cobriza y de 21 de la variedad Plateada, pertenecientes a 9 explotaciones, mediante punción en vena axilar, que se conservaron extemporáneamente en tarjetas Guthrie. Los marcadores RHT0216, ADL0023, TUM16, RHT0009, RHT0011, TUM20, RHT0294, RHT0131, RHT0095 y RHT0037 se amplificaron de acuerdo a las instrucciones publicadas por Burt et al. (2003). Tras la electroforesis capilar en un equipo MEGABACE 500 (Servicio de Secuenciación de ADN de la Universidad de Zaragoza), los resultados se analizaron mediante los softwares CERVUS (Análisis de variabilidad, contenido informativo de los polimorfismo y capacidad de exclusión de parentesco, Marshall et al., 1998), GENETIX (Análisis de Correspondencias factoriales, Belkhir et al., 1996) y STRUCTURE (Análisis de estructura de las población, Pritchard et al., 2000; Evanno et al., 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Además de los marcadores reseñados en el apartado anterior, se descartaron RHT0153 y RHT0297, por presentar problemas de identificación de alelos y de presencia de alelos nulos. Los niveles de variabilidad observados se resumen en la Tabla 1.

No se han detectado problemas de consanguinidad en la población global (F_{IS} global = -0,008 NS, $p > 0,05$). Este hecho es de especial importancia de cara a confirmar la viabilidad de la población. Existen indicios de cruzamientos (exceso de heterocigotos) entre explotaciones, siendo el valor de F_{IS} promedio de -0.117** ($p < 0,01$). Sin embargo, estos cruzamientos no han conseguido homogenizar la población; se han obtenido indicios de diferenciación genética entre explotaciones, con un valor promedio de F_{ST} de 0.109** ($p < 0,01$). En las comparaciones entre pares de poblaciones, las poblaciones 2, 4 y 7 son las que dan más valores significativos de F_{ST} (5 valores significativos), seguidas por las poblaciones 8 y 9 F_{ST} (3 valores significativos de F_{ST}).

Los resultados del análisis factorial de componentes (FCA) se resumen en la Figura 1.

El análisis bayesiano de la estructura de la población realizado mediante el programa STRUCTURE muestra la existencia de dos clusters globales, y sus resultados pueden resumirse en la observación de la Figura 3 y de los siguientes datos: El 84,21% de los animales queda asignado a uno de los dos clusters y un 15,79 % de los animales serían mezcla de ambos clusters. En las explotaciones hay mezcla de ambos clusters, salvo en la nº7. Debe admitirse por este motivo que no hay una clara correspondencia entre cada una de las dos variedades de plumaje y alguno de los clusters identificados, por lo que no se trataría de dos poblaciones de orígenes diferentes. La abundante información disponible sobre la herencia del color del plumaje en la gallina indica que este se debe en muchos casos a la interacción entre un número muy reducido de loci, por lo que puede haber relaciones de parentesco de primer grado entre ejemplares que muestran coloridos a simple vista muy diferenciados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belkhir, K.P., Borsa, P., Goudet, P., Chikhi, L. & Bonhomme, F. 1996-1998. Disponible en <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm> .
- Burt, D.W., Morrice, D.R., Sewalem, A., Smith, J., Paton, I.R., Smith, E.J., Bentley, J. & Hocking, P.M. 2003. Anim. Genet. 34:399-409.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. 2005. Mol. Ecol. 14: 2611-2620.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B. & Pemberton, J.M., 1998. Mol. Ecol. 7:639-655.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P., 2000. Genetics 155: 945-959.

Agradecimientos: Este trabajo ha contado con el apoyo económico de la Diputación Provincial de Huesca. Los autores manifiestan también su agradecimiento a la Asociación de Criadores (APAVOS), y en especial a los criadores que han colaborado dando acceso a la toma de muestras de sus animales.

Tabla 1. *Parámetros de variabilidad genética. K: Número de alelos observado. H (Obs): heterocigosidad observada. H(Exp): heterocigosidad esperada. PIC: contenido informativo del polimorfismo. Excl(1): probabilidad de excluir un progenitor incorrecto desconociendo el otro progenitor. Excl(2): probabilidad de excluir un progenitor incorrecto conociendo el otro progenitor.*

Locus	k	H (Obs)	H (Exp)	PIC	Excl (1)	Excl (2)
RHT0216	6	0.316	0.404	0.365	0.083	0.212
ADL0023	5	0.667	0.644	0.567	0.213	0.359
TUM16	4	0.482	0.535	0.424	0.142	0.231
RHT0009	2	0.175	0.161	0.147	0.013	0.074
RHT0011	4	0.536	0.568	0.469	0.161	0.271
TUM20	5	0.821	0.789	0.747	0.389	0.569
RHT0294	2	0.411	0.350	0.287	0.060	0.143
RHT0131	2	0.321	0.360	0.293	0.064	0.146
RHT0095	3	0.625	0.611	0.522	0.183	0.313
RHT0037	2	0.537	0.428	0.334	0.090	0.167
Media	3.500	0.487	0.485	0.415		
Potencia de exclusión total					0.795	0.953

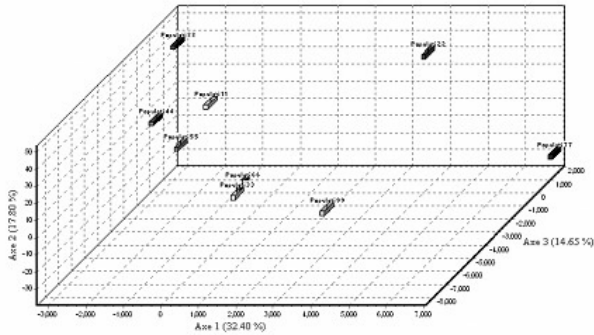


Figura 1. Representación gráfica en 3 dimensiones del análisis factorial de correspondencias. Cada población es representada por un punto. Se aprecia la existencia de diferenciación entre algunas poblaciones.

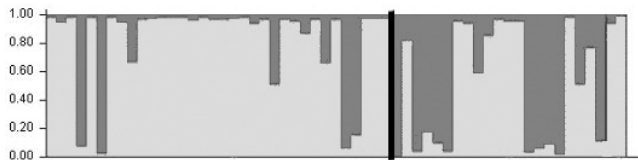


Figura 2. Representación gráfica del análisis de estructura de población mediante software Structure. Cada columna corresponde a un individuo, y la escala izquierda indica la probabilidad de cada individuo de pertenecer a cada uno de los clusters. Sólo os ejemplares que superan el 80% de probabilidad de pertenecer a un cluster se asignan al mismo, mientras que el resto se consideran mezclados. La línea negra vertical separa las explotaciones de las dos variedades. Nótese la mezcla de clusters presente en ambas.

GENETIC STUDIES IN THE OSCENSE TURKEY BY MEANS OF MICROSATELLITES.

ABSTRACT

The endangered Oscense Turkey, a population from the Spanish northern province of Huesca, near the Pirineic Mountains includes two colour varieties (copper and silver). A set of 12 microsatellites DNA markers was pre-selected to study different genetic parameters of the population. Among them 10 were finally considered to provide valuable consistent reads and we used to estimate variability indexes. High significant global inbreeding was disregarded in the light of the results obtained (F_{IS} global=-0,008 NS, $p>0,05$). Mean F_{IS} value was -0.117** ($p<0,01$) and it pointed to the existence of crossings among individuals from different farms. The farms show some signs of genetic differentiation since the mean F_{ST} value is 0.109** ($p<0,01$). These observations are confirmed by FCA analysis. Structure analysis points to the existence of two clusters, not biunivocally related to each variety, since all the flocks (except one) presented animals from both clusters, even if only one variety exists in each flock.

Keywords: Turkey, Oscense, DNA markers, microsatellites, population genetics.

ESTUDIOS GENÉTICOS EN LA GALLINA DEL SOBRARBE MEDIANTE MARCADORES MICROSATÉLITES.

Monteagudo, L.V.², Avellanet, R.¹, Tejedor, M.T.² y Azón, R¹.

¹ Apabos (Asociación de Criadores de Pavo Oscense)

²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013-ZARAGOZA. E-mail: monteagu@unizar.es

INTRODUCCIÓN

En 1995 se iniciaron las tareas de recuperación de una población de gallinas mantenidas mediante sistemas tradicionales en la comarca del Sobrarbe y alrededores, que se ha venido denominando "Gallina del Sobrarbe" (Azón y Francesch, 1998). Se trata de animales adaptados al clima de montaña, cuyos principales índices productivos han sido ya evaluados por Cajal (2009). Desde el año 2002, la asociación de criadores de la raza (AGASOB) se encarga de la aprobación del estándar de la misma y de su difusión entre criadores. En el presente trabajo se abordan las tareas imprescindibles de identificación individual, valoración de los niveles de consanguinidad y, en general, de análisis de la estructura genética de la población, de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre, (BOE del 27 de enero de 2009), por el que se establece el Programa nacional de conservación, mejora y fomento de las razas ganaderas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron 96 animales (48 de la variedad negra, procedentes de 9 explotaciones, y 48 de la variedad triguëña, pertenecientes 7 granjas diferentes). Para ello se partió de muestras de sangre obtenidas por punción en vena axilar y conservadas en tarjetas Guthrie extemporáneamente. De entre el juego de marcadores microsatélites denominado set MoDAD y propuesto por el comité conjunto FAO/ISAG (Hoffmann, 2004), se eligieron 16: MCW0069, LEI0094, MCW0295, MCW0216, MCW0034, MCW0111, MCW0016, MCW0330, MCW0037, MCW0078, MCW0067, MCW0098, MCW0123, MCW0183, MCW0165 y ADL0112. Los marcadores se amplificaron por PCR de acuerdo a las instrucciones emanadas de la FAO (2004). El análisis mediante electroforesis capilar para identificar el tamaño de los alelos se ejecutó utilizando un equipo MEGABACE 500 en el Servicio de Secuenciación de ADN de la Universidad de Zaragoza. Posteriormente, se aplicaron los software CERVUS (Análisis de variabilidad, contenido informativo de los polimorfismo y capacidad de exclusión de parentesco, Marshall et al., 1998), GENETIX (Análisis de Correspondencias Factoriales, Belkhir et al., 1996) y STRUCTURE (Análisis de estructura de las población, Pritchard et al., 2000; Evanno et al., 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los principales índices de variabilidad genética obtenidos se resumen en la Tabla 1. Es de destacar que el set de marcadores aplicados permitiría excluir un progenitor erróneo con un margen de seguridad superior al 99%. En este estudio se ha obtenido un valor medio de $F_{IS} = 0,018$ ^{NS} ($p > 0,05$): es decir, no se ha detectado un valor de consanguinidad significativamente distinto de cero. Por otra parte, se ha obtenido un valor medio de $F_{ST} = 0,135$ ^{**} ($p < 0,01$) entre las 16 granjas estudiadas; es decir, existen diferencias genéticas altamente significativas entre granjas, achacables al aislamiento reproductivo entre ellas, incluso si se puede remontar a unas pocas generaciones atrás. En resumen, la población estudiada puede considerarse viable a medio plazo. La Figura 1 ilustra las diferencias entre poblaciones estimadas mediante Análisis de Correspondencias Factoriales. Es de señalar que no se aprecia una clara separación entre las dos variedades estudiadas. El análisis bayesiano de la estructura genética de la población mediante el software STRUCTURE indica que el número de clusters más probable es $k=4$. La Figura 2 muestra la asignación de los diferentes individuos a cada uno de los clusters. Nuevamente, la pertenencia de los individuos a una u otra variedad no se asocia exclusivamente a un determinado cluster. Debe tenerse en cuenta que los dos colores de la capa dependen en este caso exclusivamente del locus extensión: diferencias en los alelos de un solo gen determinan la pertenencia a una u otra variedad, y podrían darse relaciones de parentesco de primer grado entre ejemplares de ambos colores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azon, R., & Francesch, A. 1998. Archivos de Zootecnia 47:461-465.
- Belkhir, K.P., Borsa, P., Goudet, P., Chikhi, L. & Bonhomme, F. 1996-1998. Disponible en <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm>.
- Cajal, J.R. 2009. Escuela Politécnica Superior de Huesca. Proyecto Fin de Carrera.
- Evanno, G., Regnaut, S. & Goudet, J. 2005. Mol. Ecol. 14: 2611-2620.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2004. Secondary Guidelines for Development of National Farm Animal Genetic Resources Management Plans. Measurement of Domestic Animal Diversity (MoDAD): Recommended Microsatellite Markers. Ed. UNEP.
- Hoffmann, I., Marsan, P.A., Barker, J.S.F., Cothran, E.G., Hanotte, O., Lenstra J.A., Milan, D., Weigend, S., & Simianer, H. 2004. 30th ISAG conference. Tokyo. Japón.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B. & Pemberton, J.M. 1998. Mol. Ecol. 7:639-655.
- Pritchard, J.K., Stephens, M. & Donnelly, P. 2000. Genetics 155: 945-959.

Agradecimientos: Este trabajo se ha realizado con el apoyo financiero del al Departamento de Agricultura y Alimentación del Gobierno de Aragón. Los autores manifiestan también su agradecimiento a la asociación de criadores AGASOB y en especial a los criadores que han permitido el acceso a la toma de muestras de sus ejemplares.

Tabla 1. *Parámetros de variabilidad genética. K : Número de alelos observado. H(Obs): heterocigosidad observada. H(Exp): heterocigosidad esperada. PIC: contenido informativo del polimorfismo. Excl(1): probabilidad de excluir un progenitor incorrecto desconociendo el otro progenitor. Excl(2): probabilidad de excluir un progenitor incorrecto conociendo el otro progenitor.*

Locus	k	H _{Obs}	H _{Esp}	PIC	Excl (1)	Excl (2)
MCW0069	4	0.621	0.667	0.591	0.222	0.371
LEI0094	6	0.484	0.585	0.524	0.179	0.330
MCW295	5	0.568	0.644	0.585	0.224	0.386
MCW216	3	0.305	0.330	0.278	0.054	0.141
MCW0034	8	0.632	0.678	0.630	0.266	0.440
MCW111	4	0.406	0.406	0.350	0.082	0.192
MCW0016	5	0.625	0.636	0.577	0.217	0.378
MCW0330	5	0.531	0.705	0.647	0.278	0.446
MCW0037	6	0.458	0.464	0.425	0.114	0.259
MCW0078	7	0.379	0.522	0.450	0.141	0.267
MCW0067	4	0.642	0.655	0.577	0.214	0.361
MCW0098	4	0.152	0.143	0.135	0.010	0.069
MCW0123	6	0.333	0.327	0.294	0.054	0.162
MCW0183	4	0.200	0.272	0.242	0.037	0.126
MCW0165	3	0.196	0.555	0.462	0.153	0.265
ADL0112	5	0.469	0.574	0.515	0.173	0.325
Media	4.94	0.438	0.510	0.455		
Potencia total de exclusión					0.932	0.996

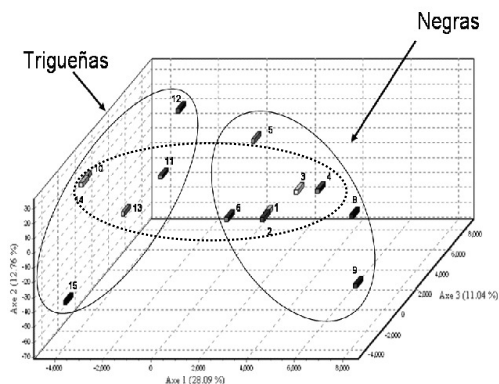


Figura 1. Representación gráfica en 3 dimensiones del análisis factorial de correspondencias. Cada población es representada por un punto. Se aprecia la existencia de diferenciación entre algunas poblaciones. Nótese cómo la distancia entre poblaciones de diferente variedad (óvalo horizontal) es inferior a la existente intra-variedad (óvalos laterales).

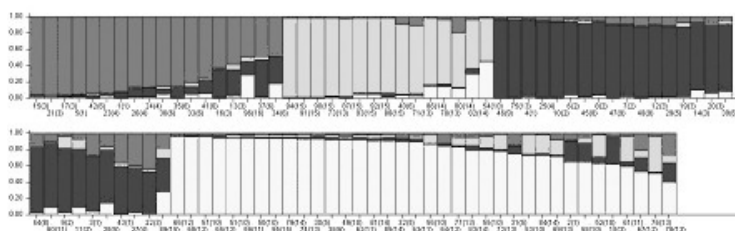


Figura 2. Representación gráfica del análisis de estructura de población mediante el software STRUCTURE. Cada columna corresponde a un individuo, y la escala izquierda indica la probabilidad de cada individuo de pertenecer a cada uno de los cuatro clusters identificados. Sólo los ejemplares que superan el 80% de probabilidad de pertenecer a un cluster se asignan al mismo, mientras que el resto se consideran mezclados.

GENETIC STUDIES IN THE CHICKEN OF SOBRARBE BY MEANS OF MICROSATELLITE MARKERS.

The Sobrarbe Chicken breed has been submitted in the last decades to a recovery plan. In the present work, we analyzed DNA from 98 individuals belonging to the two most important varieties of this population. For this purpose, we applied 16 microsatellites markers chosen from the FAO/ModAD markers set. These markers panel could detect erroneous parentage in more than 99% of the cases. The results allow us to disregard significant inbreeding ($F_{IS}=0,018^{NS}$, $p>0,05$). On the other hand, significant genetic differences exist among the farms ($F_{ST}=0,135^{**}$; $p<0,01$), probably due to reproductive isolation. The STRUCTURE analysis indicates $K=2$ as the most probable number of clusters. The two clusters are not directly related to the two varieties. In summary, the viability of the population in the mid term does not seem to be seriously menaced.

Keywords: Sobrarbe chicken, Microsatellites, Population Genetics

SELECCIÓN DE MACHOS CON MARCADORES MOLECULARES PARA LA CREACIÓN DE UN BANCO DE SEMEN DE LAS RAZAS OVINAS ARANESA Y XISQUETA Y DE LA CAPRINA BLANCA DE RASQUERA

Ferrando, A.¹, Casas, M.¹, Palomo, M. J.², Terré, M.³ y Jordana, J.¹

¹Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V, 08193-Bellaterra (Barcelona). Jordi.Jordana@uab.es.

²Departament de Medicina i Cirurgia Animals, Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Edifici V, 08193-Bellaterra (Barcelona). ³ Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries, Torre Marimon, 08140, Caldes de Montbui.

INTRODUCCIÓN

Este estudio se engloba en un proyecto de colaboración más amplio para la creación de un banco de semen de razas autóctonas de ovino y caprino en peligro de extinción (oveja Aranesa, oveja Xisqueta y cabra Blanca de Rasquera). El objetivo de este estudio es la selección de diez machos jóvenes de cada una de las tres razas mediante marcadores moleculares, de los que se conservará material seminal mediante crío-conservación. Se han seguido dos criterios principales: 1) en las razas ovinas, favorecer la presencia de machos con genotipos de elevada resistencia a Scrapie y descartar los de elevada sensibilidad, y 2) crear un grupo con una baja coascendencia molecular y una elevada riqueza alélica para establecer una reserva genética representativa de la raza.

Para ello, se ha utilizado información sobre las coascendencias moleculares entre las diferentes subpoblaciones de las razas (Ferrando et al., 2010a, b) para dirigir el muestreo de los machos candidatos para el programa. Posteriormente, se ha comparado los perfiles genéticos de los machos candidatos para el programa con las bases de datos genéticas de las tres razas (Avellanet, 2006; Ferrando et al., 2007; Jordana et al., 2007).

MATERIAL Y MÉTODOS

Los ganaderos que aceptaron entrar en el proyecto facilitaron una serie de muestras de machos nacidos en sus explotaciones de unas pocas semanas de vida que debían cumplir con el estándar de la raza y tener a sus padres inscritos los Libros Genealógicos de las razas. En total, se obtuvieron muestras de sangre de 50 machos de la raza Aranesa (5 explotaciones) y de 40 machos de la raza Xisqueta (12 explotaciones) y 36 muestras de pelo de la raza Blanca de Rasquera (5 explotaciones). El ADN de las muestras de sangre fue extraído siguiendo un protocolo estándar con fenol-cloroformo, y el de las muestras de pelo fue extraído con el kit comercial "DNeasy Blood & Tissue Kit" (Qiagen, Valencia, CA, USA).

En las razas ovinas, se obtuvo el genotipo de los machos para los 13 marcadores microsatélite siguientes: MCM42, INRA49, MCM527, TGLA53, MAF65, HSC, OarCP20, OarCP34, OarCP49, OarAE119, OarFCB11, MCM218 y MAF214. En la raza caprina se utilizó un panel de 12 marcadores: MCM527, MAF65, SRCRSP05, SRCRSP06, SRCRSP08, SRCRSP23, HSC, OarCP34, OarFBC11, MCM218, MAF214 y OarAE119. Los productos de PCR fueron analizados en un secuenciador ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) usando un marcador interno del tamaño de los fragmentos. Además, en las razas ovinas, también se determinó el genotipo del grado de sensibilidad/resistencia a Scrapie (R1-R5). Los parámetros de diversidad genética así como los valores de coascendencia molecular media de los machos con el conjunto de la raza y entre machos fueron calculados con el programa Molkin V.3.0 (Gutiérrez et al., 2005).

Los criterios de selección de los machos fueron los siguientes: 1) sensibilidad/resistencia a Scrapie: en los ovinos se descartaron todos los individuos con los perfiles R4 y R5 y se favoreció la presencia de individuos con los perfiles R1 y R2, 2) coeficiente de coascendencia media de cada macho con el conjunto de la raza (f) y de auto-coascendencia (s), 3) coeficiente de coascendencia media entre machos del mismo rebaño (f_w): se evitó elegir dos machos con coeficientes elevados entre sí, especialmente si procedían de la misma explotación, 4) rebaño de procedencia: se favoreció la presencia de machos de un mayor número de explotaciones diferentes y 5) coeficiente de coascendencia media entre machos de distintos rebaños. Algunos individuos inicialmente seleccionados causaron baja

por diferentes motivos y fueron reemplazados por otros siguiendo la lista de priorización. Una vez definidos todos los machos seleccionados para el programa de conservación, se calcularon los parámetros de diversidad genética de estos grupos. Las bases de datos de referencia incluyeron 227 cabras Blanca de Rasquera (6 municipios), 615 ovejas Xisqueta (4 comarcas) y 232 ovejas Aranesas (6 zonas estivales de pasto).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los diez machos de la raza ovina Aranesa que fueron finalmente seleccionados para el proyecto procedían de cinco explotaciones diferentes. Cuatro individuos presentaban el genotipo R1 de resistencia a Scrapie, uno era R2 y los cinco últimos fueron R3. Por lo tanto, la mitad de ellos presentaban un genotipo resistente o muy resistente a Scrapie. La coascendencia media de la raza fue de $f = 0.257$ y la auto-coascendencia media de $s_i = 0.642$. Estos valores sirvieron de referencia para elegir a los diez machos para el proyecto. Los diez machos presentaron un valor medio de coascendencia bajo con toda la raza $f = 0.232$ y entre ellos $f_w = 0.263$, con una auto-coascendencia media de $s_i = 0.623$. El valor de coascendencia dentro de grupo aumenta debido al peso de la auto-coascendencia, especialmente cuando el número de individuos es reducido, por ello el valor dentro del grupo de machos es más elevado que el valor con el conjunto de la raza. La diversidad genética de este grupo fue elevada ($H_E = 0.74$), con un media de 7.1 alelos por locus.

Se seleccionaron diez machos de la raza ovina Xisqueta procedentes de ocho explotaciones distintas. Dos de ellos causaron baja a última hora y no pudieron ser reemplazados por lo que el grupo final se compuso de ocho animales de siete explotaciones. Entre ellos, uno presentó un genotipo R2 de resistencia a Scrapie y el resto fueron todos R3. El coeficiente medio de coascendencia de la raza fue de 0.234, y de auto-coascendencia fue de 0.638. La diversidad genética del grupo de machos seleccionados también fue elevada ($H_E = 0.77$), con una media de 6.4 alelos por locus. El valor medio de coascendencia molecular del grupo con toda la raza fue de $f = 0.199$, y dentro del grupo fue de $f_w = 0.233$, con una auto-coascendencia media de $s_i = 0.611$.

El coeficiente de coascendencia molecular medio de la raza caprina Blanca de Rasquera fue de 0.271, con un valor medio de auto-coascendencia de 0.652. La diversidad genética del grupo de diez machos seleccionados fue de $H_E = 0.74$, con una media de 5.8 alelos por locus. El coeficiente medio de coascendencia del grupo con toda la raza fue de $f = 0.248$, y dentro del grupo fue de $f_w = 0.261$, con una auto-coascendencia media de $s_i = 0.580$.

Los grupos de machos seleccionados presentaron un bajo coeficiente de coascendencia media con el conjunto de su raza y dentro de su grupo. Dado el número limitado de machos seleccionados para cada raza, el número medio de alelos por locus de estos grupos fue menor al total de la raza, y a menudo también al de las diferentes poblaciones analizadas por separado. No obstante, la riqueza alélica de estos grupos para un mismo número de individuos fue superior al de las diferentes subpoblaciones (ver Tabla 1). Por lo tanto, estos grupos de machos retienen, comparativamente, una diversidad genética y alélica relativamente elevada. Estos individuos fueron posteriormente trasladados a las instalaciones del IRTA para su entrenamiento como sementales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avellanet, R. 2006. Tesis Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona.
- Ferrando, A., Avellanet, R., Casas, M. & Jordana, J. 2010a. XI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, João Pessoa (Brasil). *Memorias*, pp. 125-128.
- Ferrando, A., Marmi, J., Parés, P.M., Carné, S., Vidilla, M., Avellanet, R. & Jordana, J. 2010b. VII Congreso Ibérico sobre los Recursos Genéticos Animales, Gijón (España). Libro de Comunicaciones, p. 82.
- Ferrando, A., Parés, P. M., Marmi, J. & Jordana, J. 2007. *Memorias: VIII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos*, Quevedo (Ecuador). *Memorias*, pp. 329-334.
- Gutiérrez, J. P., Royo, L. J., Álvarez, I. & Goyache, F. 2005. *J. Hered.* 96: 718-721.
- Jordana, J., Marmi, J., Carné, S. & Ferrando, A. 2007. VIII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, Quevedo (Ecuador). *Memorias*.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado con un proyecto INIA (Ref. RZ2009-00008, Ministerio de Ciencia e Innovación) y por el *Departament d'Agricultura, Alimentació i Acció Rural de la Generalitat de Catalunya*. También agradecemos a los ganaderos y a las asociaciones de las razas ACORA, ACOXI y *Associació de Ramaders de Cabra Blanca de Rasquera*.

Tabla 1. Parámetros de diversidad genética de cada subpoblación de las tres razas.

Raza (subpoblación)	N	H_O	H_E	F_{IS}	f_w	NMA	R.A.
<i>Aranesa (zonas de pasto)</i>							
Saplan-Coma Palas	74	0.73	0.76	0.029	0.244	9.5	6.2 ¹
Montludé-Portet	30	0.69	0.72	0.033	0.284	8.3	6.1 ¹
Corilha-Salient	36	0.66	0.70	0.052	0.305	7.8	5.4 ¹
Boca Nord del Túnel	30	0.71	0.73	0.018	0.273	7.3	5.6 ¹
Pla de Beret	43	0.73	0.72	-0.007	0.275	8.2	5.9 ¹
Porcingles	19	0.72	0.72	0.013	0.288	6.9	5.8 ¹
Machos seleccionados	10	0.78	0.74	-0.043	0.257	7.1	7.1 ¹
<i>Xisqueta (comarcas)</i>							
Alta Ribagorça	123	0.71	0.76	0.063	0.239	11.7	5.9 ²
Pallars Jussà	270	0.72	0.76	0.059	0.239	12	5.9 ²
Pallars Sobirà	189	0.73	0.76	0.045	0.236	11.2	5.8 ²
Ribagorça	33	0.76	0.74	-0.022	0.260	7.9	5.5 ²
Machos seleccionados	8	0.78	0.77	-0.015	0.233	6.4	6.4 ²
<i>Blanca de Rasquera (municipios)</i>							
Rasquera	47	0.69	0.72	0.045	0.281	7.5	5.3 ¹
Tivenys	30	0.74	0.72	-0.018	0.276	6.1	5.1 ¹
Tivissa	50	0.71	0.73	0.025	0.269	6.5	5.0 ¹
Vandellòs	40	0.70	0.72	0.027	0.284	6.9	5.2 ¹
Horta de St. Joan	39	0.68	0.71	0.036	0.291	6.8	5.1 ¹
Bot – Prat de Comte	21	0.65	0.62	-0.043	0.377	5.3	4.5 ¹
Machos seleccionados	10	0.84	0.74	-0.137	0.261	5.8	5.7 ¹

N, número de individuos; heterocigosis observada (H_O) y esperada (H_E); F_{IS} , déficit/exceso de heterocigotos; f_w , coeficiente medio de coascendencia dentro de subpoblación; NMA, número medio de alelos por locus; R.A., riqueza alélica para (¹) diez o (²) ocho individuos.

SELECTION OF MALES BY USING MOLECULAR MARKERS FOR THE CREATION OF A SPERM BANK OF ENDANGERED ARANESA AND XISQUETA SHEEP BREEDS AND RASQUERA WHITE GOAT BREED

ABSTRACT: This study has been realized in the framework of a collaborative project for the creation of a sperm bank of three endangered breeds: Aranese and Xisqueta sheep breeds and Rasquera White goat breed. The aim of this study was to select ten males per breed according to two main criteria 1) in both sheep breeds, to favour the presence of individuals with genotype of resistance (R1-R2) to Scrapie and discard those susceptible to this disease (R4-R5) and 2) create a group of individuals with a low coefficient of molecular coancestry and a high level of allelic richness. Between eight to ten individuals were selected per breed according to these criteria and moved to specific installations for training as sperm donors.

Keywords: molecular coancestry, microsatellite, conservation programme.

ESTIMACIÓN DE FRECUENCIAS ALÉLICAS PARA LOS CODONES 136, 154 Y 171 DEL GEN PRNP OVINO A PARTIR DE LECHE DE TANQUE MEDIANTE UN PROCEDIMIENTO RT-PCR

Morán, J.A., Álvarez, L., DE la Fuente, L.F., Gonzalo C., San Primitivo, F. y Arranz J.J.
Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071
León E-mail: jamorp@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Desde el año 2003, con la directiva CE2003/100/EC (Comisión Europea, 2003), se hace obligatorio incluir, en los programas de selección ovina, la resistencia frente al scrapie clásico, como un objetivo complementario. Para cumplir esta exigencia, se han adaptado los programas de selección, incluyendo como criterio el genotipo para el gen PRNP. Por otra parte, desde el año 2008 distintas investigaciones han detectado que, en las ovejas con la enfermedad, la leche puede ser portadora de concentraciones importantes de la proteína infectiva (Konold et al., 2008; Lacroux et al., 2008). Este hecho plantea diversos interrogantes, con respecto al riesgo de exposición a las encefalopatías espongiformes transmisibles (EET), asociadas con leche y productos lácteos procedentes de ovejas o de otras especies lecheras susceptibles a EET. Ante esta situación, algunos países de la Unión Europea solicitan certificaciones de origen de la leche que importan, con fines preventivos.

En este contexto, y partiendo de la relación existente entre la resistencia al scrapie y la estructura del gen PRNP, resulta de especial interés conocer la frecuencia de los alelos del gen PRNP, en los rebaños de ganado ovino, con el fin de evaluar la capacidad de resistencia o susceptibilidad genética de la población lechera ante esta enfermedad. Para ello, nos proponemos optimizar un método que permita estimar las frecuencias alélicas, para el gen PRNP, de una forma rápida y segura, utilizando una muestra de leche de tanque. El objetivo final es conocer, concretamente, las frecuencias para las variantes genéticas que afectan a los codones 136, 154 y 171, relacionados con la resistencia al scrapie clásico.

Este estudio se enmarca dentro del proyecto europeo denominado RISKSCRA, realizado por investigadores e industrias lácteas de Italia, Grecia, Croacia y España (con la participación de la Universidad de León). El objetivo de este proyecto es poner a punto un protocolo comercial que permita analizar el nivel de resistencia al scrapie y certificar el estatus de diferentes rebaños y su evolución a lo largo del tiempo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para estimar la fiabilidad del método propuesto se han analizado 3 ganaderías ovinas especializadas en la producción de leche (TM, AL y VP), cuyos animales estaban genotipados para los codones 136, 154 y 171 del gen PRNP. El mismo día en que se realizó el control lechero oficial, se acudió a las diferentes explotaciones y se anotó la identificación de los animales que estaban en lactación. Simultáneamente, se tomó una muestra de 200 ml de leche de tanque, después de una homogenización cuidadosa de la leche presente. A partir de los datos oficiales de control lechero se obtuvieron las producciones y el recuento de las células somáticas de cada uno de los animales que habían sido ordeñados y que, por lo tanto, habían contribuido a la leche muestreada.

Asilamiento de ADN:

La muestra de leche de tanque se ha dividido en cuatro réplicas de 50 ml y se ha procedido a la extracción de DNA de las células somáticas, aisladas mediante una centrifugación a 1000 x g durante 10 minutos. El sedimento se lava con 1 ml de tampón de lisis y se digiere con Proteinasa K durante 4 horas a 42 °C. El DNA se aísla utilizando el kit *NucleoSpin Food®* de Macherey Nagel, siguiendo las instrucciones del proveedor.

Determinación de las frecuencias alélicas

Para la determinación de las frecuencias alélicas, en cada uno de los 3 codones, se ha diseñado un protocolo de PCR cuantitativa. La secuencia de los *primers* y las sondas específicas de alelo para las dos cadenas se presentan en la Tabla 1.

Para cada posición a interrogar, se utiliza una curva patrón con concentraciones decrecientes (1/10) de DNA (desde 30 ng/μl hasta 0,03 ng/μl), incluyendo al menos tres puntos para la calibración de la recta. La recta de calibración se ha realizado para los dos alelos de cada locus. Con objeto de evitar sesgo, por las posiciones en la placa, se ha

realizado una amplificación por triplicado. La descripción del método utilizada esta detallada en Pfaffl (2001).

Tabla 1. Primers utilizados en la RT-PCR y sondas de discriminación alélica en los tres codones analizados del gen PRNP.

Codon	Secuencia (5'-3')	Sonda discriminación alélica
136 A/V	CTGCAGCTGGAGCAGTGGTA	A: TCATGgCACTTCC
	GATAGTAACGGTCCTCATAGTCATTGC	V: CTCATGaCACTTCC
154 R/H	GATCCACTGGTCTGTAGTACACTTGG	R: CCGTTACTATCgTGAAAA
	CATGAGCAGGCCTCTTATACATTTT	H: CGTTACTATCaTGAAAAC
171 R/no R	TGTTGACACAGTCATGCACAAAG	R: CCAGTGGATCgGTATA
	GTTACCCCAACCAAGTGTACTACAGA	No R: ACCAGTGGATCagTATA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a la baja frecuencia, en los rebaños analizados, del alelo Valina en el codón 136, no se ha detectado variabilidad en este codón y los resultados presentados hacen referencia a los codones 154 y 171. En el codón 171 únicamente se ha discriminado el alelo que confiere mayor resistencia al scrapie clásico "R" frente al resto de las variantes que se han detectado en dicho locus (Q, H y K).

En la Figura 1, se representan las frecuencias estimadas, mediante el procedimiento de RT-PCR, y las esperadas en función del genotipo individual. Como se puede observar, en todos los casos existe una buena aproximación de los valores estimados frente a los esperados. Así, en el codón 154, las frecuencias porcentuales observadas para el alelo H son de 3,75 %; 1,94 % y 3,28 %; frente a 3,3 %; 1,53 % y 2,80 % para las explotaciones TM, AL y VP, respectivamente. En el caso del alelo R del locus 171, los valores observados son de 32,83 %; 13,84 % y 24,9 % y los esperados en las mismas explotaciones, de 29,90 %; 15,45 % y 24,41 %. En ninguno de los casos las diferencias han resultado significativas (diferencias estimadas con el estadígrafo de contraste Z).

Por lo que respecta a la repetibilidad del método, los coeficientes de variación estimados para las cuatro repeticiones que se realizan de cada determinación, alcanzaron valores que oscilaron entre 0,01% y 0,18%, lo que deja clara la escasa variabilidad encontrada en las repeticiones.

El método utilizado permite, por lo tanto, de una forma sencilla, rápida y barata, estimar la proporción de animales portadores de cada uno de los alelos presentes en un rebaño, para valorar, de una forma aceptablemente precisa, su riesgo para el scrapie clásico. Como se ha indicado, algunos países solicitan información sobre el estatus de los rebaños de los que procede la leche que adquieren, en relación con su capacidad de resistencia al scrapie. El método que hemos desarrollado, y aquí presentamos, puede resultar útil, no solo para cumplir el requisito solicitado, sino para conocer la estructura de un rebaño respecto al gen PRNP y decidir los genotipos más adecuados para los sementales destinados a padres de los animales de reposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Comisión europea. 2003. 2003/100/EC. Official Journal L041: 41-45.
- Gonzalo, C., Pérez-Bilbo, M., García-Jimeno, M.C. & Arranz, J.J. 2010. Revista del Consorcio de Promoción del Ovino, Nº 4.
- Konold, K., Jo Moore, S., Bellworthy, S.J. & Simmons, H.A.. 2008. BMC Vet. Res. 4:14.
- Lacroix, C., Simon, S., Benestad, S. L., Maillat, S. et al. 2008. PLoS Pathogens 4, issue 12, e1000238
- Pfaffl, N.W. 2001 Nucleic AcidS Res. 29: 2002-2007.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del proyecto RISKSCRA financiado por la UE (COOL-CT-2006-030278) y por el gobierno autonómico de Castilla y León (Junta de Castilla y León) a través de la financiación a grupos de excelencia en investigación (GR43)..

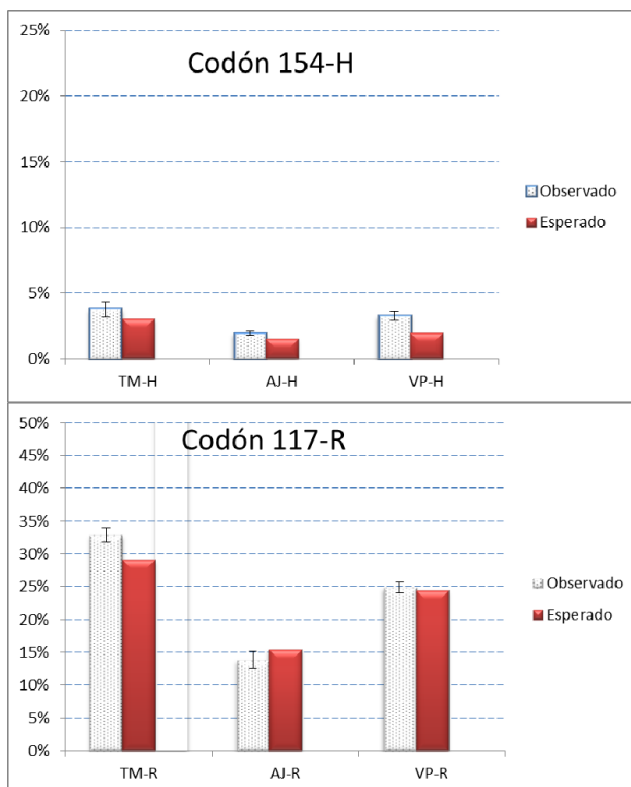


Figura 1. Representación de las frecuencias alélicas para el alelo H en el loci 154 y el R en el 171 del gen PRNP. En azul se presentan las frecuencias estimadas a partir del análisis de la leche de tanque con el método de PCR a tiempo real (RT-PCR) y en rojo las esperadas en función de los genotipos individuales de los animales presentes durante el ordeño.

ESTIMATION OF ALLELE FREQUENCIES FOR CODONS 136, 154 AND 171 AT PRNP GENE BY RT-PCR IN BULK TANK MILK IN DAIRY SHEEP

ABSTRACT: The aim of this work is to develop new analytical tools to assess and quantify scrapie risk in sheep milk and to implement their application in field conditions. For this purpose a Real time PCR procedure was developed in order to estimate allele frequencies at codons 136, 154 and 171 in the PRNP gene in commercial ovine flocks using DNA isolated from bulk tank milk. To evaluate the reliability of this method a comparison between the frequencies estimated from the Real Time-PCR procedure and frequencies expected on the basis of individual genotyping of lactating ewes of the flock was performed and no significant differences were detected. The method was consistent estimating flock frequencies both for medium and extreme values of frequencies. As conclusion this procedure is an efficient tool for understanding the scrapie protective status of the flock.

Keywords: Scrapie resistance, Bulk milk, sheep

VALIDACIÓN DE GENES DE REFERENCIA NORMALIZADORES DE LA EXPRESIÓN GÉNICA PARA LA RESPUESTA A ESTRÉS TÉRMICO EN LA ESPECIE OVINA.

Serrano, M.¹, González, C., Moreno-Sánchez, N., Marcos-Carcavilla, A., Van Poucke, M., Calvo, J. H., Salces, J., y Carabaño, M. J.

¹INIA. Ctra. de La Coruña Km. 7,5. 28040 (Madrid) España.

E-mail: malena@inia.es

INTRODUCCIÓN

La precisión de las medidas de expresión obtenidas mediante qPCR depende del control de parámetros que generalmente son normalizados utilizando genes de referencia (GRs). La expresión de los GRs se supone que no varía en los tejidos, células o tratamientos bajo investigación, pero parece que no existen GRs universales y que todos los genes se expresan diferencialmente en al menos un contexto biológico (Lee et al., 2010). De este modo se hace necesario validar GRs para cada situación experimental. Por otro lado, el uso de modelos matemáticos adecuados para estimar la estabilidad de la expresión de los genes bajo diferentes condiciones es un punto crítico. GeNorm (Vandesompele et al., 2002) y Normfinder (Andersen et al., 2004) son dos de los programas más utilizados para determinar GRs. El primero considera que todas las muestras proceden de un solo grupo y por tanto la estima de la estabilidad de la expresión (M) se basa exclusivamente en las varianzas de la expresión entre los genes. El Normfinder permite estimar las varianzas de expresión de los genes entre y dentro de grupos y calcula la estabilidad combinando ambas fuentes de información. Los genes con mínima varianza entre y dentro de grupos son los más estables. Szabo et al. (2004) propusieron el cálculo del error cuadrático medio (sesgo²+varianza) como valor de estabilidad, y un criterio mini-max MSE para determinar el mejor grupo de GRs comunes a varios tratamientos.

Las variaciones en la temperatura ambiental son una fuente de estrés y motivan la aparición de mecanismos genéticos adaptativos de defensa contra las elevadas temperaturas. El estrés térmico conduce a cambios en la expresión génica en la mayoría, si no en todas, las células así como en una variedad de órganos y tejidos asociados a la respuesta de aclimatación. Hasta la fecha no existe literatura de GRs en el contexto de la respuesta al estrés térmico en la especie ovina. En este trabajo se propone un nuevo método mediante Máxima Verosimilitud-Modelos Mixtos para estimar la estabilidad de la expresión de 16 genes candidatos a GRs en estudios de expresión bajo condiciones de estrés térmico en la especie ovina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 16 genes (Tabla 1). Se recogieron muestras de sangre de 15 machos Manchegos en la provincia de Ciudad Real bajo dos condiciones climáticas (temperatura y humedad relativa): el grupo control a 28,6°C y 52% y el grupo bajo estrés térmico a 34,4°C y 35%. El ARN total se aisló a partir de 10ml de sangre completa usando el kit LeukoLock (Ambion, Inc.). El ADNc fue sintetizado usando el ImProm-IITM Reverse Transcription System (Promega Corp.). Las reacciones de qPCR a un volumen de 20 µl (50ng de ADNc, 10 µl de PrecisionTM 2X qPCR Mastermix (Biomolecular Technologies, Inc.) y concentración de los oligos de 300nM) se llevaron a cabo por triplicado en un termociclador ABI PRISM 7500 Fast (Applied Biosystems). Para estimar las eficiencias (E) de la PCR, se diseñaron curvas patrón basadas en 5 diluciones seriadas de un stock de ADNc. Las eficiencias se calcularon a partir de la fórmula $E = 10^{(-1/\text{pendiente})}$ (Bustin, 2000). Los valores $\log_E(\text{Ct})$ se utilizaron como variables dependientes. La estima de la variabilidad de la expresión génica se realizó mediante Máxima Verosimilitud con el siguiente Modelo Mixto (MLMX): $y_{ijk} = \mu + t_i + g_j + a_k + tg_{ij} + ta_{ik} + ga_{jk} + e_{ijk}$, utilizando el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS (SAS, 2004), donde: tratamiento (t) y gen (g) se incluyeron como efectos fijos y

muestra (a), tratamientoXgen (tg), tratamientoXmuestra (ta) y genXmuestra (ga) como variables aleatorias. Se consideró una varianza residual heterogénea ligada al efecto tratamientoXgen (32 niveles). La estabilidad de la expresión se estableció en términos de sesgo y varianza calculando el Error Cuadrático medio $MSE = (\text{sesgo})^2 + \text{varianza}$. El criterio de clasificación de los genes fue el minimax MSE de Szabo et al. (2004). Para determinar el número óptimo de GRs se probaron todas las combinaciones posibles entre 2 y 16 (65,519 combinaciones). Para cada combinación se calculó el MSE como el promedio del sesgo y las varianzas. Para contrastar nuestros resultados se utilizaron los dos métodos más comúnmente usados, geNorm (Vandesompele et al., 2002) y Normfinder (Andersen et al., 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra las clasificaciones de los genes según los tres métodos. Aunque diferentes, hubo varios genes en común en las 5 primeras posiciones (*RPS18*, *SDHA* y *B2M*). *ACACA*, *ATP5G2* y *RPL19* fueron los genes menos estables bajo las tres aproximaciones. Las posiciones de *YWHAB* y *RPL13A* fueron muy distintas según el método usado. El par de genes más estable fue distinto en cada método. GeNorm considera que todas las muestras provienen del mismo tratamiento, asumiendo la no co-regulación de los candidatos a GRs. Este método tiende a favorecer a aquellos genes con patrones de expresión similares en vez de aquellos con mínima variación, lo que sería problemático si hubiese co-regulación entre ellos. Para comparar datos de expresión de distintas fuentes (tejidos, tratamientos, etc.) es necesario detectar GRs comunes a todas ellas. Con geNorm la mejor estrategia es realizar análisis independientes para cada grupo de datos y seleccionar los GRs comunes a las condiciones probadas, por lo que se ejecutó el geNorm para cada tratamiento de forma separada. Aunque el orden de los candidatos a GRs diferiría para cada tratamiento, hubo tres genes comunes en las 5 primeras posiciones de ambas clasificaciones. *SDHA*, uno de los mejores GRs detectados por nuestro MLMX, forma parte del par de genes más estables detectados por geNorm en cada tratamiento por separado. Sin embargo, es el cuarto en la clasificación de geNorm con todo el conjunto de datos. NormFinder clasifica los genes en función de la varianza de su expresión entre y dentro de tratamientos. La varianza entre grupos se estima por las diferencias en los niveles de expresión de éstos, asumiendo que el promedio de expresión de los genes es independiente del grupo y que el promedio de las variaciones entre grupos es cero. Esta última suposición requiere que se seleccionen los genes candidatos de un grupo del que a priori no se esperen diferencias de expresión entre grupos, lo cual es una incógnita en los casos donde se estudia la expresión de genes bajo nuevas circunstancias. Estas restricciones no son realistas y restan flexibilidad al modelo en el que la interacción entre genes y el ambiente se suponen parte de los mecanismos de regulación de la expresión génica.

A la hora de seleccionar los GRs además de la condición de estabilidad se deben considerar criterios biológicos y funcionales. En nuestro caso *RPS18* tiene una buena medida de estabilidad, sin embargo, algunos trabajos indican que no es un buen GR ya que la regulación de su síntesis no es representativa de los niveles de ARNm (Radonic et al., 2004). *RPS26* se mostró muy estable bajo MLMX, sin embargo, este gen tiene múltiples pseudogenes procesados (Zhang et al., 2002) que en el caso de expresarse podrían dar lugar a resultados erróneos. Al igual que en este estudio, algunos trabajos han señalado a *SDHA* como un buen GR bajo diferentes circunstancias tanto en humanos (Balogh et al., 2008) como en bovino (Kullberg et al., 2006). *B2M* ha sido utilizado como GR en numerosos trabajos científicos, sin embargo, se sabe que su expresión varía considerablemente bajo diferentes condiciones experimentales. La mayoría de trabajos científicos utilizan *ACTB* como GR. No obstante Xu y Miller (2004) determinaron que la expresión de *ACTB* se alteraba de forma espacial y temporal. Descartando *RPS18* y *RPS26* de los análisis por las

razones biológicas comentadas, el mejor grupo de dos genes resultó *SDHA/MDH1* (MSE= 0,0006) y el mejor de tres *RPL19/ACTB/SDHA* (MSE = 0,0006). Estos valores fueron similares a los de la mejor combinación *RPS26/SDHA* (MSE = 0.0005) obtenida con todos los genes. Sin embargo, *SDHA/B2M* y *SDHA/ACTB* tuvieron mayores valores (0,0011 y 0,0010, respectivamente). Los resultados indican que *SDHA/MDH1* constituyen un buen par de GRs para el estudio de la expresión génica de la respuesta al estrés térmico en ovino utilizando sangre completa como fuente biológica de material genético.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andersen, C. L., J. Ledet-Jensen & T. Ørntoft. 2004. *Cancer Res.* 64: 5245-5250.
- Balogh, A., Paragh, G.Jr, Juhasz, A. et al. 2008. *J Photochem. Photobiol. B* 93: 133-139.
- Bustin, S. A. 2000. *J Mol Endocrinol.* 125: 169-193.
- Kullberg, M., Nilsson, M.A., Arnason, U., Harley, E.H. & Janke. 2006. *Mol. Biol. Evol.* 23(8):1493-1503.
- Lee, P.D., Sladek, R., Greenwood, C.M.T. & Hudson, T.J. 2010. *Genome Res.* 12:292-297.
- Radonic A., Thulke S., Mackay IM., Landt O., Siebert W. & Nitsche A. 2005. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313(4): 856-862.
- SAS Institute Inc. 2004. *SAS/STAT® 9.1 User's Guide.* Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Szabo, A. et al. 2004. *Genome Biol* 5: R59.
- Vandesompele, J. et al. 2002. *Genome Biol* 3 (7): 0034.1-0034.11.
- Xu, M. & Miller, M.S. 2004. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 201: 295– 302.
- Zhang Z., Harrison P. & Gerstein M. 2002. *Genome Res.*12(10): 1466–1482.

Tabla 1. Clasificación de los genes según los distintos métodos.

ID gen	gen	ML-Mixed	gen	Norm	gen	geNorm
		model		Finder		
	RPS26/SDHA	0.0005	RPS26/YWHAB	0.008	ACTB/RPL13A	0.294
100036761	RPS18	0.0007	RPS18	0.013	YWHAB	0.782
443468	RPS26	0.0009	B2M	0.022	RPS18	0.790
100036762	SDHA	0.0011	YWHAZ	0.024	ACTB	0.796
443295	B2M	0.0015	SDHA	0.026	SDHA	0.797
443052	ACTB	0.0017	YWHAB	0.029	B2M	0.815
443091	MDH1	0.0019	RPS26	0.030	YWHAZ	0.833
780452	YWHAZ	0.0020	ACTB	0.035	RPL13A	0.839
780524	LOC780524	0.0027	Cyp1a1	0.037	RPS26	0.847
443005	GAPDH	0.0030	GAPDH	0.039	GAPDH	0.882
100036763	YWHAB	0.0033	RPL13A	0.043	RPLP0	0.899
100036764	RPLP0	0.0038	MDH1	0.048	LOC780524	1.085
100270789	RPL19	0.0039	ACACA	0.057	MDH1	1.119
443542	ATP5G2	0.0057	RPLP0	0.058	RPL19	1.140
100170113	Cyp1a1	0.0063	LOC780524	0.061	Cyp1a1	1.170
443186	ACACA	0.0069	RPL19	0.072	ATP5G2	1.308
100036760	RPL13A	0.0078	ATP5G2	0.077	ACACA	1.568

DETECTION OF REFERENCE GENES FOR THE HEAT STRESS RESPONSE IN THE OVINE SPECIES

ABSTRACT: We have tested 16 putative reference genes in peripheral whole blood of control and heat stressed ovine samples to detect stable genes for the heat-shock response. To determine gene expression stability a new approach based in Maximum Likelihood estimation of Mixed Model parameters has been tested and compared to commonly used software (NormFinder and geNorm). Differences in the stability rankings of genes were found among the three approaches. Under our approach *SDHA* and *MDH1* was the best set of genes to be normalizers of target genes in heat shock experiments in the ovine specie.

Keywords: Heat shock, reference genes, ML-Mixed model, ovine

ANÁLISIS DEL AJUSTE DE LOS MODELOS LINEAR, LINEAR ASIMÉTRICO Y DE RIESGOS PROPORCIONALES PARA EL INTERVALO ENTRE PARTOS EN LA RAZA OVINA RIPOLLESA

Casellas, J¹.

¹G2R. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. España.
E-mail: joaquim.casellas@uab.cat

INTRODUCCIÓN

El intervalo entre partos (**IP**), junto con la prolificidad, es uno de los factores con mayor influencia sobre la productividad numérica de los rebaños de ovino de carne y, en definitiva, sobre el rendimiento económico de los mismos. Desde un punto de vista fenotípico, resulta importante destacar que se trata de un carácter productivo con una distribución claramente asimétrica, sobre-expresándose la cola derecha de la misma y, en determinados casos, con patrones multimodales. Aunque el IP ha sido analizado en multitud de ocasiones y razas, la modelización de esas peculiaridades matemáticas sigue sin resolverse adecuadamente, aplicándose generalmente modelos BLUP estándar (Henderson, 1973) sobre la base de una distribución normal (simétrica) multivariante para los residuos. Esta asunción no ha sido validada convenientemente y, dada la posibilidad actual de modelizar este tipo de procesos dispersivos mediante distribuciones normales asimétricas (Varona et al., 2008) o modelos de riesgos proporcionales (Casellas, 2007), resulta de especial relevancia para el sector ovino determinar el modelo de análisis óptimo para este carácter. El presente trabajo se centró en determinar la bondad de ajuste de tres aproximaciones paramétricas distintas para el análisis del IP, *i*) modelo BLUP simétrico, *ii*) modelo BLUP asimétrico, y *iii*) modelo *piecewise* Weibull de riesgos proporcionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los análisis se realizaron sobre el carácter IP definido como el intervalo temporal (días) transcurrido entre dos partos sucesivos de la misma oveja. Este carácter se analizó sobre los registros reproductivos de seis rebaños de raza Ripollesa adscritos al Programa de Control de Rendimientos y Mejora Genética de la misma: *Can Benito* (Jafre, Girona), *Can Blanch* (Arbúcies, Girona), *Can Gori* (Perelada, Girona), *Can Nualart* (La Garriga, Barcelona), *Les Anglades* (Esponellà, Girona) y *Mas Ros* (La Garriga, Girona). El número de registros fenotípicos y animales procedentes de cada rebaño, así como los valores tomados por la variable IP se resumen en el Tabla 1. Todos los rebaños seguían un manejo reproductivo de cubriciones continuas con una ratio de moruecos/ovejas de como máximo 1/30. Para este estudio, únicamente se usaron los registros de IP comprendidos entre 135 y 500 días, descartándose los valores tanto inferiores (abortos) como superiores (sugieren la posibilidad de partos no registrados durante el intervalo).

Todos los modelos de análisis incorporaron tres fuentes de variación independientes en forma de efectos sistemáticos, ambientales permanentes y genéticos aditivos. Los efectos sistemáticos incluían la edad de la oveja con seis niveles (<3, 3, 4, 5, 6 y >6 años) y el número de corderos nacidos en el parto inicial (1, 2 o >2 corderos), mientras que los efectos ambientales permanentes corregían por los efectos inherentes a cada oveja y al año-estación. El primero de los modelos de análisis fue un modelo animal linear (Henderson, 1973), asumiendo una distribución normal (simétrica) multivariante para la distribución de los IP (modelo **NS**). En segundo lugar, se aplicó el modelo normal asimétrico (modelo **NA**) descrito por Varona et al. (2008), dónde se incorpora la posibilidad de asimetría sobre la distribución (normal) de los residuos mediante el parámetro Λ . La asimetría será positiva (sobre-expresión de la cola de la derecha) cuando $\Lambda > 0$, y negativa cuando $\Lambda < 0$. Finalmente, la última parametrización utilizada fue el modelo *piecewise* Weibull de riesgos proporcionales (modelo **RP**) descrito por Casellas (2007), y asumiendo entre 2 y 10 puntos de corte para la función *piecewise* Weibull. Este modelo se enmarca dentro de las técnicas de análisis de supervivencia y permite la modelización de variables continuas fuera del contexto de los modelos puramente aditivos. Las tres parametrizaciones se implementaron desde un punto de vista Bayesiano asumiendo las verosimilitudes y distribuciones a priori sugeridas en Varona et al. (2008) y Casellas (2007). Para cada análisis se lanzó una única

cadena de 1.000.000 de iteraciones, descartándose las 25.000 primeras como *burn-in*. Los modelos se compararon mediante el *deviance information criterion* (DIC; Spiegelhalter et al., 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para todos los rebaños, el modelo NS fue el más penalizado, reduciéndose drásticamente el valor del DIC al incorporar la posibilidad de patrones asimétricos a la distribución normal bajo el modelo NA (Tabla 2). Para todos los rebaños, los valores modales obtenidos para el parámetro λ fueron positivos y con el intervalo de credibilidad alejado del valor nulo (resultados no mostrados). No obstante, la implementación de modelos de riesgos proporcionales mejoró el ajuste obtenido bajo el modelo NA en todos los casos, con reducciones en el valor del DIC que fluctuaron entre 3.068,7 (*Can Nualart*) y 38.262,2 unidades (*Mas Ros*). Resulta importante destacar que aunque el modelo RP fue el de elección en todos los rebaños, el número óptimo de puntos de corte para la función *piecewise* Weibull varió de manera importante, siendo 2 para *Can Benito*, *Can Gori*, *Les Anglades* y *Mas Ros*, 4 para *Can Nualart* y 6 para *Can Blanch*. Lejos de invalidar la utilidad de los modelos RP para el análisis del IP, este cambio en el número de puntos de corte en los distintos rebaños sugiere la necesidad de analizar específicamente cada población de ovino y determinar de manera precisa la estructura adecuada de la función Weibull antes de realizar estudios más avanzados sobre el carácter.

Centrándonos en los parámetros de la función Weibull (ρ y λ), sus estimas variaron de manera importante en los distintos rebaños incluidos en este estudio. Mientras las estimas modales de ρ fluctuaban entre 5,3 (*Can Nualart*) y 10,3 (*Can Gori*), la λ se mantenía entre valores de 0,00021 (*Can Blanch*) y 0,00035 (*Can Benito*). En cuanto a los puntos de corte para *Can Blanch* se situaron a los 0, 165, 218, 297, 367 y 500 días, mientras que para *Can Nualart* se restringían a 0, 180, 231 y 500 días. En conjunto, estos resultados no hacen sino demostrar una importante heterogeneidad en cuanto al IP analizado bajo modelos RP, caracterizándose estos como la mejor parametrización disponible de acuerdo con los resultados obtenido del DIC, pero alertando de la necesidad de modelizar específicamente cada rebaño o población sin asumir o extrapolar modelos ajustados sobre otras bases de datos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Casellas, J. 2007. *J. Anim. Breed. Genet.* 124: 176-184.
- Henderson, C. R. 1973. *Proc. Anim. Breed. Genet. Symp. in Honor of Dr. Jay L Lush.* ASAS-ADSA, Champaign, IL, EUA, 10-41.
- Spiegelhalter, D. J., Best, N. G., Carlin, B. P. & van der Linder, A. 2002. *J. Royal. Stat. Soc. B* 64: 583-639.
- Varona, L., Ibáñez-Escriche, N., Quintanilla, R., Noguera, J. L. & Casellas, J. 2008. *Genet. Res.* 90: 179-190.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el convenio DAR-ANCRI-UAB y RYC-2009-04049.

Tabla 1. Datos fenotípicos de intervalo entre partos y número de ovejas incluidas en los análisis.

Rebaño	Intervalo entre partos (días)			Ovejas	
	n	Media \pm e.e.	25% ¹ - 75%	Fenotipo ²	Pedigrí
<i>Can Benito</i>	4.564	256,8 \pm 1,1	205 - 289	874	1.087
<i>Can Blanch</i>	2.618	302,1 \pm 1,3	251 - 350	595	722
<i>Can Gori</i>	6.070	246,6 \pm 0,6	217 - 261	1.530	4.973
<i>Can Nualart</i>	2.043	255,9 \pm 1,5	204 - 307	506	513
<i>Les Anglades</i>	5.134	274,6 \pm 1,0	218 - 315	824	1.035
<i>Mas Ros</i>	11.557	245,6 \pm 0,5	208 - 264	2.035	2.450

¹Percentiles 25% y 75%; ²Ovejas con registros fenotípicos de intervalo entre partos

Tabla 2. Valores del DIC para los tres modelos analizados.

Modelo	Rebaño					
	<i>Can Benito</i>	<i>Can Blanch</i>	<i>Can Gori</i>	<i>Can Nualart</i>	<i>Les Anglades</i>	<i>Mas Ros</i>
NS	90,169.3	50,850.6	112,967.6	40,281.7	100,854.1	219,801.5
NA	74,819.8	45,082.1	93,691.3	33,027.8	84,330.8	176,997.4
RP ¹	58,212.4 ₍₂₎	38,914.1 ₍₆₎	70,751.5 ₍₂₎	29,959.1 ₍₄₎	65,418.5 ₍₂₎	138,735.2 ₍₂₎

¹El valor en subíndice indica el número de puntos de corte de la función *piecewise* Weibull

GOODNESS-OF-FIT OF LINEAR, SKEWED-LINEAR AND PROPORTIONAL HAZARD MODELS FOR THE ANALYSIS OF LAMBING INTERVAL IN THE RIPOLLESA SHEEP BREED

ABSTRACT: The goodness-of-fit of three different parameterization for the analysis of lambing interval was studied on field data from six Ripollesa flocks. More specifically, the mixed linear animal model, skewed mixed linear animal model and piecewise Weibull proportional hazard model were compared by the DIC statistic. All flocks revealed the same pattern where the mixed linear animal model was clearly discarded and also the skewed mixed linear model suffered important penalties. Within this context, piecewise Weibull models were revealed as the best parameterization; DICs were more than 3,000 units smaller when compared with estimates from linear models. The different flocks differed in the number of cut points for the piecewise Weibull function, they ranging between 2 and 6.

Keywords: lambing interval, proportional hazard, Ripollesa breed, skewed distributions.

VARIANZA GENÉTICA ADITIVA CON ORIGEN PATERNO PARA PESO AL NACIMIENTO EN LA RAZA BRUNA DELS PIRINEUS

Fina, M¹., Varona, L²., Piedrafita, J¹. y Casellas, J¹.

¹Grup de Recerca en Remugants, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra (Barcelona).

²Departamento de Anatomía, Embriología y Genética Animal, Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza.
marta.fina@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Los procedimientos de evaluación genética en bovinos de carne se centran casi únicamente en el efecto genético directo (Henderson, 1973), acompañado a veces por efectos genéticos maternos (Quintanilla et al., 1999). Aunque se acostumbren a ignorar sistemáticamente, resulta plausible imaginar efectos genéticos heredados vía paterna como los vinculados al cromosoma Y o al fenómeno de *imprinting* paterno. No obstante, desconocemos en gran medida su posible impacto sobre variables productivas como el peso al nacimiento. La posible influencia del cromosoma Y sobre caracteres productivos en bovino fue descartada en la raza Simmental, mientras que se reportó *imprinting* paterno en terneros Gelviah y Simmental (Reinsch et al., 1999; Engelland y Tier, 2002; Neugebauer et al., 2010). Dada la escasez de resultados acerca de la contribución de efectos genéticos paternos en bovino de carne, resulta de especial importancia desarrollar modelos estadísticos para capturar este tipo de efectos, así como determinar su relevancia sobre caracteres de interés productivo en el ganado bovino. El objetivo de este trabajo fue estudiar las distintas fuentes de varianza genética paterna sobre el carácter peso al nacimiento en la raza *Bruna dels Pirineus*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio ha sido realizado sobre los datos procedentes del Programa de Control de Rendimientos y Mejora Genética de la *Bruna dels Pirineus*. Los análisis se realizaron sobre 8.130 datos de peso al nacimiento (PN) registrados durante el periodo 1989-2010 y pertenecientes a 12 explotaciones conectadas genealógicamente. El pedigrí consistió en 10.266 animales, incluyendo 2.671 madres y 230 padres de animales con información fenotípica. Se asumieron un total de 28 grupos genéticos (Casellas et al., 2007). Para el análisis de los efectos genéticos heredados vía paterna se estudiaron los vinculados al cromosoma Y y al *imprinting* paterno. Como punto de partida, el PN se analizó bajo el modelo (YI):

$$y = Xb + Z_1a + Z_2i + W_1d + W_2h + W_3s + e$$

donde **b** era el vector de efectos sistemáticos con edad de la madre (6 niveles), tipo de parto (simple o doble) y sexo del ternero (macho o hembra), **a** e **i** eran los vectores de efectos genéticos aditivos directo y de *imprinting* paterno, respectivamente, **d**, **h** y **s** eran los vectores de los efectos permanentes materno (2.317 niveles), rebaño-año-estación (135 niveles) y efecto del cromosoma Y (48 niveles), respectivamente, y **X**, **Z**₁, **Z**₂, **W**₁, **W**₂, **W**₃ eran las matrices de incidencias correspondientes. Con el objetivo de determinar la relevancia tanto biológica como estadística de los efectos genéticos del cromosoma Y y del *imprinting* paterno, el PN se analizó también bajo tres modelos adicionales, idénticos al YI pero eliminando los efectos **s** (modelo YN), **i** (modelo IN) y **s** e **i** (modelo NN). La contribución del cromosoma Y sobre el PN se ha modelizado como un efecto aleatorio permanente, heredado de padres a hijos machos, y vinculado a los genes situados en la región no autosómica de este cromosoma.

Como distribución *a priori* de **s**, se asignó $N(\mathbf{0}, \mathbf{I}\sigma_s^2)$ donde σ_s^2 era el componente de varianza genética vinculado al cromosoma Y. El efecto del *imprinting* paterno se caracterizó como la contribución de los genes expresados en caso de heredarse vía paterna, asumiendo como *a priori* para **a** e **i**, una normal multivariante, $N(\mathbf{0}, \mathbf{G} \otimes \mathbf{A})$,

donde $\mathbf{G} = \begin{bmatrix} \sigma_a^2 & \sigma_{a,i} \\ \sigma_{a,i} & \sigma_i^2 \end{bmatrix}$, $\sigma_{a,i}$ era la covarianza genética entre **a** e **i**, y σ_a^2 y σ_i^2 eran las varianzas genéticas para **a** e **i**, respectivamente.

Los modelos descritos se analizaron mediante inferencia Bayesiana a través del software TM de Legarra et al. (2008), lanzando tres cadenas de muestreo de 5.050.000 iteraciones y descartándose las 50.000 primeras como *burn-in*. Los modelos se compararon mediante el *deviance information criterion* (DIC) desarrollado por Spiegelhalter et al. (2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del DIC para todos los modelos se presentan en la Tabla 1. El modelo YN fue el que obtuvo un valor menor de DIC con diferencias promedio superiores a 39.000 unidades con respecto a los demás modelos. Estos resultados sugieren la presencia de variación genética vinculada al cromosoma Y, pero descartándose los efectos de *imprinting* paterno sobre el PN. Nuestros resultados coinciden parcialmente con los reportados por Reinsch et al. (1999) en terneros Simmental, donde se sugirió la posibilidad de pequeños efectos del cromosoma Y sobre caracteres de crecimiento y canal. En otras especies, tampoco son demasiados los ejemplos encontrados sobre la herencia no mendeliana de la región no autosómica del cromosoma Y. En ratones, Maxon (1990) y Sluyter et al. (1996) encontraron influencias en el comportamiento agresivo, y Bünger et al., (1995) describieron efectos del cromosoma Y sobre caracteres de crecimiento. La ausencia de efectos de *imprinting* paterno sobre el PN contrasta con los resultados descritos por Engellandt y Tier (2002) en terneros Gelbvieh y Neugebauer et al. (2010) en terneros Simmental, aunque estos autores no analizaron el PN sino el crecimiento de los terneros y caracteres vinculados a la canal. A nivel molecular, existen algunos ejemplos conocidos de genes con *imprinting* paterno como el *Igf2* que influye sobre el desarrollo muscular y deposición de grasa (Jeon et al., 1999; Nezer et al., 1999). Recientemente, Neugebauer et al. (2010) sugirieron la posibilidad de *imprinting* materno sobre 6 caracteres productivos de crecimiento y canal en terneros Simmental. No obstante, resulta importante destacar que son muy escasos los resultados descritos sobre la contribución de los efectos paternos en bovino de carne.

Las estimas de los componentes de varianza para el PN en la *Bruna dels Pirineus* se presentan en la tabla 2. Estos resultados reportaron un valor de σ_s^2 de 0,48 kg², con el intervalo de credibilidad situado entre 0,21 y 0,81 kg². En relación con los demás componentes de varianza del modelo, σ_s^2 explicaba alrededor del 2% de la variabilidad del carácter, capturando una nueva fuente de variación que puede ser utilizada dentro de las evaluaciones genéticas de la raza, sumándose al 30% de variabilidad capturada por σ_a^2 .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bünger, L., Renne, U., Dietl, G. & Pirchner, F. 1995. J. Anim. Breed. Genet. 112: 455 - 461.
- Casellas, J., Piedrafita, J., & Varona, L. 2007. Genet. Sel. Evol. 39: 39-53.
- Engellandt, T. & Tier, B. 2002. Anim. Breed. Genet. 119:154–165.
- Henderson, C. R. 1973. Genet. Symp. in Honor of Dr. Jay L Lush, ASAS-ADSA, Champaign, IL, EUA, pp.10-41.
- Jeon, J.T., Carlborg, Ö., Törnsten, A., Giuffra, E., Amarger, V., Chardon, P., Andersen-Eklund, L., Andersson, K., Hansson, I., Lundström, K. & Andersson, L. 1999. Nat. Genet. 21: 157–158.
- Legarra, A., 2008. TM Threshold Model [<http://acteon.webs.upv.es/>].
- Maxon, S.C. 1990. Behav. Genet. 20: 109-126.
- Neugebauer, N., Räder, I., Schild, J., Zimmer, D. & Reinsch, N. 2010. J. Anim. Sci. 88: 523-532.
- Nezer, C., Moreau, L., Brouwers, B., Coppieters, W., Detillieux, J., Hanset, R., Karim, L., Kvasz, A., Leroy, P. & Georges, M. 1999. Nat. Genet. 21: 155–156.
- Reinsch, N., Engellandt, T. H., Schild, H.-J., & Kalm, E. 1999. Anim. Breed. Genet. 118: 437-445.
- Sluyter, F., Van Oortmerssen, G. A., De Ruitter, A. J. H. & Koolhaas, J. M. 1990. Behav. Genet. 26: 489 - 496.

Agradecimientos: Trabajo enmarcado dentro del Programa de Control de Rendimientos y Mejora Genética de la raza *Bruna dels Pirineus*, y financiado por el *Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural*, con la inestimable aportación de los ganaderos de FEBRUPI que han registrado la información productiva.

Tabla 1. Resultados del DIC para los distintos modelos sobre PN. Los modelos incluyeron los efectos de imprinting paterno y cromosoma Y (YI), sólo imprinting paterno (IN), sólo efectos del cromosoma Y (YN) y ninguno de los dos (NN).

	NN	IN	YN	YI
DIC 1	2.709.081,5	3.046.436,9	2.669.669,0	3.018.774,4
DIC 2	2.707.983,8	3.044.791,3	2.667.828,4	3.015.606,9
DIC 3	2.710.698,8	3.050.242,2	2.671.033,1	3.004.168,2
Media	2.709.254,7	3.047.156,8	2.669.510,2	3.012.849,8
Error estándar	1.365,8	2.795,9	1.608,2	7.683,5

Tabla 2. Componentes de varianza para PN bajo el modelo MYN.

Componente de varianza	Media (% de varianza fenotípica)	Percentiles
		2,5% – 97,5%
σ_a^2	6,84 (29,2%)	5,15 – 8,64
σ_d^2	1,60 (6,8%)	0,96 – 2,17
σ_h^2	1,56 (6,7%)	1,11 – 2,10
σ_s^2	0,48 (2,1%)	0,21 – 0,81
σ_e^2	12,96 (55,3%)	12,03 – 14,18

σ_a^2 : varianza genética aditiva; σ_d^2 : varianza ambiental materna; σ_h^2 : varianza ambiental de rebaño-año-estación; σ_s^2 : varianza genética del cromosoma Y; σ_e^2 : varianza residual.

SIRE-SPECIFIC ADDITIVE GENETIC VARIANCE FOR BIRTH WEIGHT IN BRUNA DELS PIRINEUS BEEF CATTLE

ABSTRACT: It is possible to account for sire-related genetic effects in genetic evaluations, such as the effect of genes in the non-autosomal region of the Y-chromosome and the effect of paternal imprinting. Due to the lack of available results about the contribution of these sources of variation in beef cattle, this study investigated the relevance of these sire-related effects on the birth weight (BW) of *Bruna dels Pirineus* calves. The analysis performed on 8,130 BW records collected between 1989 and 2010 in twelve purebred herds. BW was analyzed using a univariate Bayesian animal model and the relevance of paternal imprinting and Y-chromosome-linked effects was checked by the deviance information criterion. Our results evidenced remarkable effects from the loci located in the non-autosomal region of the Y-chromosome, whereas paternal imprinting was discarded. Note that differences in DIC between the preferred model (i.e. Y-related effects and without paternal imprinting) and the remaining ones exceeded 39,000 DIC units. It is important to highlight that Y-chromosome accounted for ~2% of the total phenotypic variance for BW and revealed a relevant source of genetic variability with potential contributions to the current breeding scheme of the *Bruna dels Pirineus* beef cattle breed.

Keywords: beef cattle, genetic variance, paternal imprinting, Y-chromosome.

DESARROLLO EMBRIONARIO A LAS 48 HORAS POST-MONTA EN DOS LÍNEAS SELECCIONADAS DIVERGENTEMENTE POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO.

García, M.L.¹, Giménez, V., Muelas, R., Argente, M.J.

¹Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra de Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela, España.
mariluz.garcia@umh.es

INTRODUCCIÓN

Se está llevando a cabo un proceso de selección divergente por variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejo (Argente et al., 2011). Los resultados de las cuatro primeras generaciones de selección indican que la diferencia entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad presentan una diferencia de 0.70 para la variabilidad ambiental del tamaño de camada en la primera generación y se mantiene hasta la cuarta generación ($D=0.64$). Además se produce respuesta correlacionada con la varianza fenotípica del tamaño de camada ($D=0.81$), y una disminución del tamaño de camada en la línea H ($D=-0.65$ gazapos).

El objetivo de este trabajo es estudiar el desarrollo embrionario a las 48 horas post-monta y tras 24 horas en cultivo, en dos líneas de conejo seleccionadas divergentemente para la variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los animales utilizados en este estudio proceden de la cuarta generación de un experimento de selección divergente por variabilidad ambiental fenotípica del tamaño de camada (línea L: baja variabilidad; línea H: alta variabilidad). Los animales fueron criados en la granja de la Universidad Miguel Hernández de Elche. Las hembras fueron llevadas por primera vez a la monta a las 18 semanas de edad, para proseguir con un manejo en bandas semanales con montas 12 días post-parto. Para este experimento se utilizaron 20 hembras de la línea L y 17 hembras de la línea H, todas ellas multíparas no lactantes. Las hembras fueron montadas y 48 horas tras la monta se recuperaron los embriones, mediante perfusión de los oviductos con medio de lavado descrito por Mehaisen et al. (2006). Los embriones fueron clasificados como normales y se incubaron con medio de cultivo M199 (Sigma M5017) y suplementado con un 20% de FBS (v/v) (Sigma F4135) en atmósfera saturada a una temperatura de 37°C y con una concentración de CO₂ del 5% (Mehaisen et al., 2006). Tras 24 horas en cultivo (Püschel et al., 2010) los embriones fueron de nuevo clasificados según su grado de desarrollo.

Caracteres

Los caracteres analizados fueron la tasa de ovulación (TO), el número de embriones recuperados (ER) y el porcentaje de embriones normales (%EN). Con los embriones recuperados 48 h post-monta, se analizó el porcentaje de embriones de 16 células (%E16) y el porcentaje de inicios de mórulas (%IM), y con los embriones tras 24 horas en cultivo se analizó el porcentaje de inicios de mórulas (%IMc) y el porcentaje de mórulas compactas (%MCc).

Análisis estadísticos

Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. El modelo de efectos fijos utilizados tenía el efecto línea (con 2 niveles: alta (H) y baja (L) variabilidad) y el efecto estación (con 2 niveles: otoño y verano). Para los efectos sistemáticos se utilizó un prior plano acotado, y se asumió que las variables eran normales. Las distribuciones marginales posteriores de los parámetros desconocidos se estimaron usando muestreo de Gibbs. La convergencia fue testada usando el criterio Z de Geweke y los errores de Monte Carlo fueron obtenidos usando el procedimiento de series temporales (Sorensen y Gianola, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las medias para la tasa de ovulación, los embriones recuperados y el porcentaje de embriones clasificados como normales. Estas variables presentan medias inferiores a las estimadas en otras líneas maternas de conejos (García et al., 2010). En la misma tabla se presentan los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las dos líneas seleccionadas por variabilidad del tamaño de camada. La línea L presenta una mayor tasa de ovulación (1.22 óvulos, P= 89%) que la línea H. Aunque ambas líneas muestran casi el mismo número de embriones recuperados y el mismo porcentaje de embriones normales, su probabilidad de similitud es en ambos casos muy reducida, por lo que no se pueden extraer conclusiones firmes.

Los embriones recuperados 48 horas tras la monta fueron clasificados cómo embriones de 16 células o inicios de mórulas. Los resultados de esta clasificación se presentan en la tabla 2. El grado de desarrollo embrionario de estas líneas a 48 horas es inferior al de otras líneas maternas de conejo (García et al., 2010). La línea H presenta un menor desarrollo embrionario a 48 horas de gestación que la línea L. Concretamente, la línea H presentó un 12.9% más de embriones de 16 células y un 21.3% menos de inicios de mórulas que la línea L, siendo la probabilidad de relevancia del 80% y del 100% para ambos caracteres, respectivamente. El desarrollo de los embriones recuperados a 48 horas de gestación y puestos en cultivo 24 horas se presenta también en la tabla 2. La línea H presenta un mayor porcentaje de embriones clasificados como inicio de mórulas (D=54.2%; P=99%, Pr=98%) y un menor porcentaje de mórulas compactas (D=-53.9%; P=100%, Pr=98%).

Los resultados indican que la línea seleccionada para aumentar la variabilidad ambiental del tamaño de camada presenta un menor grado de desarrollo de sus embriones de 48 horas, y este menor grado de desarrollo se mantiene con los embriones cultivados *in vitro* durante 24 horas. Para completar este estudio sería interesante conocer el desarrollo embrionario de ambas líneas a 24 y 72 horas de gestación, así como el tamaño y la variabilidad en el tamaño de los embriones dentro de una misma hembra.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., García, M.L., Muelas, R., Santacreu, M.A. & Blasco, A. 2011. XVI Jornadas de Producción Animal.
- García, M.L., Peiró, M.J., Argente, M.J. Merchán, M., Folch, J.M., Blasco, A. & Santacreu, M.A. 2010. J. Anim. Sci. 88: 1597-1602.
- Geyer, C.M. 1992. Statist. Sci. 7: 467-511.
- Mellasen, G.M.K., Viudes de Castro, M.P., Vicente, J.S. & Lavara, R. 2006. Theriogenology, 65: 1279-1291.
- Püschel, B., Bitzer, E. & Viebahn, C. 2010. Live rabbit embryo culture. Cold Spring Harbor Protocols 5 (1).
- Sorensen, D. & Gianola, D. 2002. Springer, New York, EEUU.

Agradecimientos: Este experimento ha sido financiado con el proyecto AGL2008-05514-C02-02 y la acción complementaria ACOMP09/2009/172.

Tabla 1. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad del tamaño de camada para los caracteres tasa de ovulación (TO), embriones recuperados (ER) y porcentaje de embriones normales (%EN).

	Media	D	HPD _{95%}	P(%)	r	Ps(%)	Pr(%)
TO	12.0	-1.22	-2.83, 1.33	89	1	36	62
ER	9.5	0.24	-1.64, 1.89	64	0.5	39	40
%EN	81.6	8.29	-1.65, 1.89	60	0.5	39	40

D: media posterior de la diferencia entre las líneas de baja (L) y alta (H) variabilidad del tamaño de camada. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0. r: valor de relevancia. Ps(%): Probabilidad de similitud (Probabilidad de que el valor absoluto de D sea menor que r). Pr(%): Probabilidad de relevancia, P(D>r) cuando D>0 y P(D<r) cuando D<0.

Tabla 2. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad del tamaño de camada para los el porcentaje de embriones de 16 células (%E16) y porcentaje de inicios de mórulas (%IM) a las 48 horas post-monta y el porcentaje de inicio de mórulas (%IMc) y porcentaje de mórulas compactas (%MC) tras 24 horas de cultivo.

48 horas		Media	D	HPD _{95%}	P(%)	r	Ps(%)	Pr(%)
Fresco	% E16	9.8	12.9	-6.93, 26.3	80	4	10	80
	%IM	81.2	-21.3	-41.1, -7.9	100	4	0	100
+24 h cultivo	%IMc	54.9	54.2	16.1, 97.2	99	4	1	98
	%MC	45.1	-53.9	-92.0, -11.0	100	4	0	98

D: media posterior de la diferencia entre las líneas de baja (L) y alta (H) variabilidad del tamaño de camada. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0. r: valor de relevancia. Ps(%): probabilidad de similitud. (Probabilidad de que el valor absoluto de D sea menor que r). Pr(%): Probabilidad de relevancia, P(D>r) cuando D>0 y P(D<r) cuando D<0.

EMBRYO DEVELOPMENT AT 48 H POST-COITUM OF TWO DIVERGENT LINES SELECTED FOR ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN THE LITTER SIZE IN RABBIT

ABSTRACT: The aim of this study is to evaluate the embryo development at 48 h post-coitum and after cultured during 24 h in two lines of rabbits divergently selected for environmental variability in litter size. Females of the high line (H) for environmental variability in litter size show a higher percentage of embryos of 16 cells (D=12.9%, P(D>0)= 80%) and lower percentage of early morulae (D=-21.3%, P(D<0)=100%) than females of the low line (L). When the embryos are cultured 24 h, the H line shows higher percentage of early morulae (D=54.2%, P(D>0)=99%) and lower percentage of compacted morulae (D=-53.9%, P(D<0)=100%). These preliminary results suggest that selection to reduce environmental variability in litter size may have an effect on the early embryo development.

Keywords: Selection, environmental variance, litter size, embryo development, rabbit.

DEPURACIÓN GENÉTICA DE POBLACIONES MEDIANTE MARCADORES DIAGNÓSTICO

Amador, C.¹, Toro, M.A. y Fernández, J.

¹INIA, Ctra. Coruña Km. 7,5, 28040 Madrid, España. E-mail: amador.carmen@inia.es

INTRODUCCIÓN

La pérdida de diversidad genética, que conlleva descensos en eficacia biológica y pérdida de adaptabilidad, suele considerarse un fenómeno a evitar. Sin embargo determinadas poblaciones requieren la preservación del fondo genético diferenciado de otros grupos: han de ser mantenidas en pureza. El motivo puede ser económico: razas que proporcionan productos de interés (como los cerdos ibéricos o bovinos de raza Reggiana; Dalvit et al., 2007) razas, como en perros, que no se cruzan por motivos estéticos (Parker et al., 2004), etc. También en especies o razas salvajes amenazadas por su equivalente doméstico tiene interés el mantenimiento de su base genética diferenciada (Rhymer y Simberloff 1996; Allendorf et al., 2001). Si tenemos una población de interés que se ha cruzado (bien por error o por mala gestión) con otra y queremos recuperar su fondo genético original, tendremos que llevar a cabo un proceso de *desintrogresión*. Por ejemplo, poblaciones que quieren recuperarse a través de un banco de semen requieren la utilización de hembras de otra población cuyo fondo genético habría de ser eliminado (Hall y Bradley 1995).

En un análisis previo (no publicado) se analizó la eliminación de información no deseada mediante el uso de la información genealógica (suponiéndose un pedigrí correcto y completamente registrado). Los resultados de este análisis reflejaron un importante aumento de la consanguinidad a consecuencia de la depuración, y una eficacia limitada en casos con demasiada introgresión (por demasiada información mezclada o por demasiado tiempo sin actuar).

En este estudio utilizamos la información de marcadores bialélicos para identificar y eliminar genoma exógeno. Para ello se simularon dos situaciones. Un primer caso con marcadores diagnóstico (identificables los alelos pertenecientes a las poblaciones nativas y a las exógenas) y un segundo caso con alelos a frecuencias diferentes en ambas poblaciones, de modo que uno de los alelos es predominante en los nativos y menos frecuente en los exógenos. El objetivo fue recuperar el mayor fondo genético nativo posible, eliminando la información exógena.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se simuló una población de 100 individuos (generaciones discretas, censo constante) con genoma de 20cM, 2000 loci multialélicos y varios marcadores bialélicos. En la población base todos los individuos llevan dos alelos diferentes para cada locus multialélico.

Marcadores: Se simularon dos tipos de marcadores. a) Marcadores diagnóstico: dos alelos diferentes en cada marcador, un alelo exclusivo de exógenos y otro de nativos. b) Diferentes frecuencias alélicas: los individuos exógenos tienen siempre frecuencias intermedias para los dos alelos (0.5/0.5). Los nativos tienen frecuencias variables, siempre con un alelo predominante (0.99/0.01, 0.95/0.05, 0.90/0.10, 0.80/0.20, 0.70/0.30)

Escenarios:

- **Individuos exógenos:** 10, 20, 30, 40 o 50 individuos exógenos (10 a 50% de introgresión), de sexo aleatorio, se incluyen como parte de la población base.
- **Generaciones sin manejo:** Cinco generaciones sin manejo (contribuciones y apareamiento aleatorio) para que la información exógena se mezcle en la población.
- **Número de marcadores:** de 1 a 20 marcadores (regularmente distribuidos) sin ser exclusivos (a) y 20 para los no exclusivos (b).

Desintrogresión: Durante cinco generaciones las contribuciones a la siguiente generación se decidieron en función de la información de los marcadores. Se escogieron como padres para la siguiente generación aquellos individuos con mayor número de *alelos nativos*,

considerándose alelos nativos: Caso a. Los alelos exclusivos de los nativos. Caso b. Los alelos con mayor frecuencia en los individuos nativos.

Parámetros: Para evaluar la eficacia del método se calcularon el porcentaje de genoma proveniente de fundadores nativos (calculada a través de los 2000 loci multialélicos) y el coeficiente de consanguinidad en cada generación y en cada escenario.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

a) Marcadores diagnóstico. Los resultados para los marcadores diagnóstico se muestran en la Figura 1. La gráfica de la izquierda muestra los valores del porcentaje de genoma nativo obtenidos tras cinco generaciones de manejo frente al número de exógenos en la población base y para diferente número de marcadores. La gráfica de la derecha, muestra los coeficientes de consanguinidad obtenidos tras cinco generaciones de manejo frente al número de exógenos en la población base y para diferente número de marcadores. Como se observa en la figura, cuanto mayor es el número de marcadores empleados para depurar la población, mejores son los resultados en todos los casos, a pesar de que a mayor introgresión, menor posibilidad de recuperación. Los valores de consanguinidad alcanzados son bastante elevados y aumentan en los casos en los que la información a eliminar es mayor. Esta alta consanguinidad es consecuencia lógica del método puesto que estamos restringiendo el número de individuos que tienen descendencia en cada generación. Por tanto, la estrategia ha de ser utilizada el menor número de generaciones posible para causar el menor incremento posible en consanguinidad.

b) Marcadores no diagnóstico. Los resultados para los 20 marcadores a diferentes frecuencias en las distintas poblaciones están representados en la Figura 2. En ella se muestran los valores del porcentaje de genoma nativo obtenidos tras cinco generaciones de manejo frente al número de exógenos en la población base para diferentes frecuencias del alelo predominante en los nativos. Usando los alelos más frecuentes en las poblaciones nativas como si fueran diagnóstico aún puede recuperarse una cantidad interesante de información nativa en las poblaciones introgresadas. La consanguinidad que se obtiene en esta depuración alcanza valores ligeramente superiores al caso anterior a pesar de que la depuración es menor, debido a la pérdida de información que conlleva que los alelos no sean exclusivos sino más frecuentes (datos no mostrados).

Por tanto, hemos comprobado que con un número grande de marcadores podemos recuperar buena parte del fondo genético perdido, tanto si son marcadores diagnóstico (caso mucho mejor, pero menos realista) como si se encuentran a diferentes frecuencias, lo que resulta mucho más factible en ganadería. Cuanto más distintas sean las frecuencias, mayor efectividad de la estrategia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allendorf, F.W., Leary, R.F., Spruell, P. & Wenburg, J.K. 2001. *Trends Ecol. Evol.* 16: 613-622.
- Dalvit, C., De Marchi, M. & Cassandro, M. 2007. *Meat. Sci.* 77: 437-449.
- Hall, S.J.G. & Bradley, D.G. 1995. *Trends Ecol. Evol.* 10: 267-270.
- Parker, H.G., Kim, L.V., Sutter, N.B., Carlson, S., Lorentzen, T.D., Malek, T.B., Johnson, G.S., DeFrance, H.B., Ostrander, E.A. & Kruglyak, L. 2004. *Science* 304: 1160-1164.
- Rhymer, J.M. & Simberloff, D. 1996. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 83-109.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por CGL2009-13278-C02-02. Carmen Amador disfruta una beca FPI-INIA (INIA/Ministerio de Ciencia e Innovación).

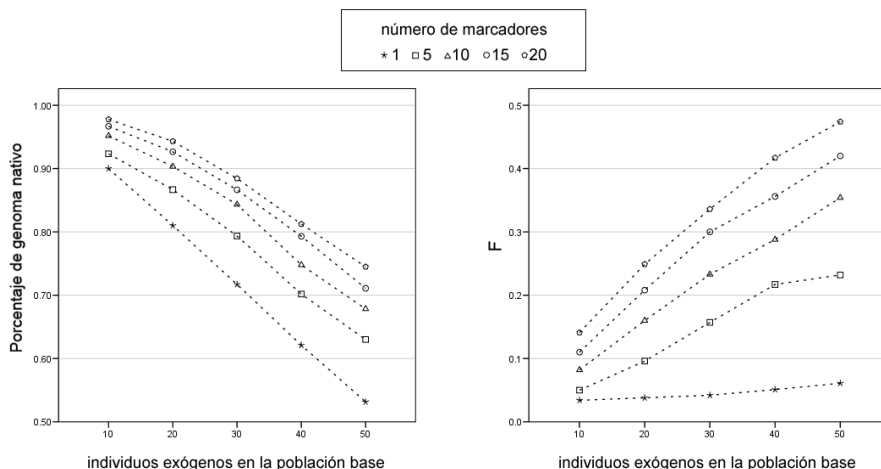


Figura 1. Marcadores diagnóstico. Porcentaje de genoma exógeno y consanguinidad alcanzados tras cinco generaciones de mezcla y cinco generaciones de manejo.

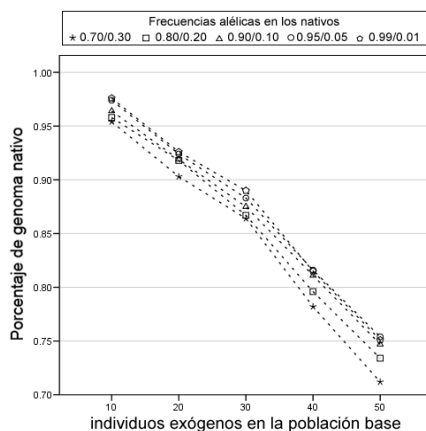


Figura 2. Marcadores a frecuencias extremas en nativos. Porcentaje de genoma exógeno alcanzado tras cinco generaciones de mezcla y cinco de manejo.

REMOVING UNDESIRED INTROGRESSION USING MARKERS

ABSTRACT: Sometimes, an objective of the genetic management of populations is to keep its original genetic background pure and remove any kind of undesired introgression. The present study tested different simulated scenarios trying to eliminate exogenous information by using two kinds of biallelic markers: unique (different alleles for natives and foreigners) and non-unique but with unbalanced frequencies in the natives. Selecting as parents those individuals with less exogenous influence (evaluated by the alleles of the markers) we reached a great depuration depending on the number of markers and the level of introgression. An increase of the inbreeding coefficient of the population is a side effect of the method.

Keywords: undesired introgression, genetic recovery, conservation

INFORMACIÓN MOLECULAR VS. INFORMACIÓN GENEALÓGICA EN LA GESTIÓN DE POBLACIONES

de Cara, M. A. R.¹, Fernández, J., Toro, M.A. y Villanueva, B.

¹ Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnologías Agrarias y Alimentarias (INIA), Ctra. de La Coruña, km. 7.5, Madrid 28040. Email: rodriguez.angeles@inia.es

INTRODUCCIÓN

Tanto en el campo de la conservación como en el de la mejora genética, se han propuesto diversos métodos para gestionar una población controlando la pérdida de diversidad genética. En poblaciones no subdivididas, el método aceptado es determinar la contribución de cada posible padre (i.e., el número de descendientes que cada individuo deja a la siguiente generación), minimizando el parentesco global de los padres ponderado por estas contribuciones (Meuwissen, 1997; Grundy et al., 1998; Fernández et al., 2003). Los coeficientes de parentesco se obtienen normalmente de la genealogía, y en dicho caso, se optimiza el parentesco global genealógico. Sin embargo, la información genealógica no está siempre disponible, en cuyo caso se pueden usar marcadores moleculares para calcular el parentesco molecular o estimar el parentesco genealógico (Toro et al., 2009). Así, cuando no se dispone de genealogías, se puede minimizar el parentesco molecular global o el parentesco global genealógico estimado con los marcadores.

Fernández et al. (2005) estudiaron mediante simulaciones la capacidad de la información molecular de reemplazar a la información genealógica, y concluyeron que el uso exclusivo de información molecular era claramente insuficiente. En dicho estudio, los autores se basaron en un número limitado de marcadores microsátélites, del orden de decenas. En la actualidad, gracias a los métodos de secuenciación de última generación, disponemos de miles de marcadores de tipo SNP, lo que hace necesaria una revisión de aquellas investigaciones que concluían que la utilidad de la información molecular era limitada e inferior a la genealógica. En este estudio, reevaluamos vía simulaciones la capacidad de la información genómica de reemplazar a la información genealógica para mantener diversidad genética en programas de conservación, usando un número de SNPs en línea con los datos actualmente disponibles.

MATERIAL Y MÉTODOS

Nuestras simulaciones comprenden dos partes: en la primera generamos una población base de censo efectivo de 100 individuos en equilibrio mutación-deriva, y en la segunda procedemos a la gestión de la población para mantener la máxima diversidad genética, en poblaciones de 20 ó 100 individuos.

Para generar la población base, simulamos durante 5000 generaciones una población de 100 individuos (50 machos y 50 hembras) que se aparean al azar con reemplazamiento. El genoma está compuesto por 1 ó 20 cromosomas, de 1 M cada uno. Cada cromosoma tiene 11000 loci bialélicos equidistantes de dos tipos: 1000 marcadores que usamos para la gestión, intercalados entre los 10000 loci no marcadores que usamos para medir diversidad. En cada generación ocurren mutaciones con tasa por locus y por generación de 0.0025, sigue con recombinación y apareamiento al azar. Inicialmente, todos los loci están fijados, y tras 5000 generaciones la población en equilibrio mutación-deriva presenta un 93% de los loci polimórficos.

La población se gestiona entonces durante 10 generaciones, optimizando las contribuciones para minimizar el parentesco global ponderado por dichas contribuciones (Fernández et al., 2003). Este método maximiza la diversidad genética (heterocigosidad esperada) de la población, el censo efectivo y la heterocigosidad esperada. La solución óptima se obtiene mediante un algoritmo de "simulated annealing".

Podemos clasificar las estrategias de gestión en función de los individuos usados para la optimización, así como si usamos información molecular o genealógica.

Respecto al grupo de individuos utilizados para la optimización, podemos distinguir dos casos: optimizar las contribuciones de los potenciales padres, o bien, actuar sobre los descendientes. En el primer caso, actuando sobre los padres, calculamos parentescos esperados, mientras que en el segundo, cuando actuamos sobre los descendientes, usamos los parentescos observados.

Por otro lado, podemos tener información genealógica, a partir de la cual inferimos el parentesco genealógico, o bien, información molecular. Cuando sólo disponemos de información molecular, podemos usarla para calcular parentescos moleculares o para estimar parentesco genealógico usando los estimadores de Lynch y Ritland (1999) y el estimador WEDS (Oliehoek et al., 2006).

Para simplificar, los estimadores de parentesco sólo los usamos cuando actuamos sobre los padres, por lo que tenemos 6 estrategias de gestión: 1), actuando sobre los padres con información genealógica; 2) actuando sobre los padres con información molecular y optimización del parentesco molecular; 3) actuando sobre los padres con información molecular y optimización del parentesco genealógico estimado mediante el estimador de Lynch y Ritland (1999); 4) actuando sobre los padres con información molecular y optimización del parentesco genealógico estimado mediante el estimador WEDS de Oliehoek et al. (2006); 5) actuando sobre los hijos con información genealógica; y 6) actuando sobre los hijos con información molecular y optimización del parentesco molecular.

Estas diferentes estrategias las comparamos en términos de diversidad génica (GD), diversidad alélica (AD) y heterocigosidad observada (OH), medidas en los loci no marcadores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Generamos 50 poblaciones base sobre las que luego hacemos la gestión y promediamos. Para cada escenario arriba mencionado, usamos las mismas réplicas, de forma que en $t = 0$ de la gestión las medias son iguales para cada escenario.

En la Figura 1, en la columna izquierda, podemos ver como la gestión, medida a través de la diversidad génica, es mejor utilizando el parentesco molecular, que es casi equivalente a utilizar el estimador WEDS. Los resultados son consistentemente peores cuando usamos información genealógica. En la misma figura, en la columna derecha, vemos como actuar sobre los hijos mantiene mayor diversidad que actuar sobre los padres. De igual manera, se mantiene mayor diversidad usando parentescos moleculares que usando información genealógica. Los resultados son equivalentes para poblaciones de 20 individuos, y para genomas de 1 cromosoma (resultados no mostrados).

Así, nuestra revisión de los resultados de Fernández et al. (2003) ha resultado en un claro cambio sobre sus conclusiones, y creemos que estamos ahora en una posición en la que si tenemos un gran número de marcadores, es preferible usar la información molecular. Por otra parte, no creemos necesario usar los estimadores de parentesco, ya que éstos tan sólo nos acercan a la información genealógica, lo que resulta en una peor gestión. Actuar sobre los hijos es preferible a actuar sobre los padres, ya que tenemos información observada, no esperada. Con estos resultados, cabe preguntarse si los estimadores de parentesco son necesarios y si no sería preferible ignorarlos y usar información molecular sin corregir, siempre que tengamos un gran número de marcadores distribuidos a lo largo del genoma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grundy, B., Villanueva, B. & Wooliams, J.A. 1998. *Gen. Res.* 72: 159-168.
- Fernández, J. & Toro, M.A. 1999. *J. Anim. Breed. Genet.* 116: 447-466.
- Fernández, J., Toro, M.A. & Caballero, A. 2003. *Genetics* 165: 885-894.
- Fernández, J., Villanueva, B., Pong-Wong, R. & Toro, M.A. 2005. *Genetics* 170: 1313-1321.
- Lynch, M. & Ritland, K. 1999. *Genetics* 152: 1753-1766.
- Meuwissen, T.H.E. 1997. *J. Anim. Sci.* 75: 934-940.
- Oliehoek, P.A., Windig, J.J., van Arendonk, J.A.M. & Bijma, P. 2006. *Genetics* 173: 483-496.
- Toro, M.A., Fernández, J. & A. Caballero. 2009. *Livest. Sci.* 120: 174-195.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CGL2009-13278-C02-02.

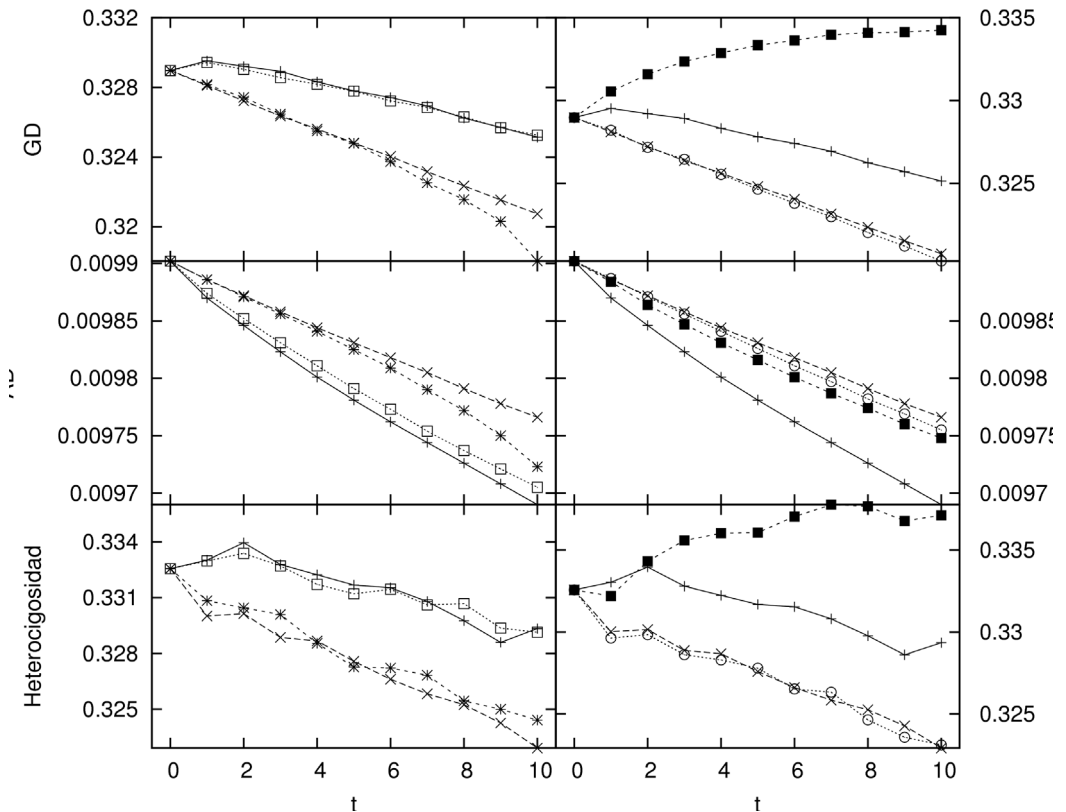


Figura 1. Resultados de heterocigosidad observada, diversidad alélica (AD) y diversidad génica (GD) durante la gestión para una población de 100 individuos de genoma de 20 cromosomas. En la columna izquierda, comparación sobre la gestión en los padres, optimizando el parentesco genealógico (x), optimizando el parentesco molecular (+), optimizando parentesco genealógico estimado LR usando información molecular (*) y optimizando el parentesco genealógico estimado WEDS usando información molecular (□). En la columna de la derecha, comparación de la gestión resultante de actuar sobre padres optimizando el parentesco genealógico (x), optimizando el parentesco molecular (+) o bien actuando sobre los hijos optimizando el parentesco genealógico (○), optimizando el parentesco molecular (■).

GENOME-WIDE INFORMATION VS. GENEALOGICAL INFORMATION IN POPULATION MANAGEMENT

ABSTRACT: We study here the consequences in the management of populations of using genealogical information versus genome-wide data for populations of different sizes and different genome sizes. The use of genealogical coancestry from the first type of data is compared with the use of molecular coancestry or estimated genealogical coancestry from the latter data. Similarly, we compare acting on the potential parents versus acting on the actual offspring. Using molecular coancestry performed consistently better than genealogical coancestry, while acting on the offspring maintained a larger gene diversity than acting on the parents.

Keywords: Pedigree, molecular coancestry, optimal contributions.

PUERCA ENDOGAMIA

¹ Silió, L., Fernández, A., Martín-Palomino, P., López, M.A., Benítez, R., Rodríguez, M.C., Barragán, C. y Ovilo, C.

¹Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040 Madrid
E-mail: silio@inia.es

INTRODUCCIÓN

La pira experimental del CIA 'Dehesón del Encinar', compuesta por las líneas ibéricas Torbiscal y Guadyrbas, constituye un elemento de importancia para la conservación de los recursos genéticos y el conocimiento de esta raza autóctona. Por permanecer cerrada desde 1944-45 con un reducido censo, el principal reto que plantea su conservación es la ralentización del inevitable aumento del parentesco entre los reproductores y los efectos negativos de la consanguinidad sobre la viabilidad de los lechones (Fernández et al., 2002; Demontis et al., 2009). Se ha sugerido que el genotipado de cientos de marcadores genéticos permite la obtención de medidas del parentesco y consanguinidad moleculares, posible alternativa a los coeficientes genealógicos (Toro et al., 2002; Alves et al., 2008). Esta opción comienza a ser factible, al menos experimentalmente, pues diferentes tecnologías de genotipado automatizado facilitan el análisis de un gran número de individuos y SNPs a coste asequible (Rohrer et al., 2007; Ramos et al., 2007; Ballester et al., 2007).

En un trabajo previo realizado a partir de genotipos de 40.200 SNPs obtenidos con el *SNP60 BeadChip*, hemos verificado en animales de la línea Torbiscal que un panel de 192 SNPs informativos proporciona estimas de homocigosis molecular altamente correlacionadas con la esperada a partir de la genealogía (Silió et al., 2010). En el presente estudio nos planteamos la comparación del efecto de ambas medidas de endogamia sobre el crecimiento de los lechones hasta los 90 días. Los resultados pueden ser útiles para valorar la conveniencia de introducir este panel de SNPs en la gestión genética de esta línea, y de modo más general la utilidad de esta información en otras poblaciones ganaderas valiosas sin registros genealógicos fiables, o en poblaciones silvestres (Csilléry et al., 2006).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales y datos fenotípicos. Con objeto de comparar diferencias de consanguinidad generadas en una sola generación, se obtuvieron 56 camadas nacidas de un diseño que - para cada verraco- combinaba apareamientos de máximo y mínimo parentesco (Fernández et al., 2002). Los registros de crecimiento analizados se obtuvieron en 322 marranos de ambos sexos, hijos de 28 verracos y 56 cerdas, nacidos en dos parideras sucesivas de la línea Torbiscal. Los animales se pesaron quincenalmente entre los 42 y 110 días de edad. A partir de estos registros, por regresión lineal se estimó para cada individuo su Ganancia media diaria en este período (pendiente de la regresión) y su Peso a 90 días (intercepto). Las respectivas medias de estos caracteres fueron 0,156 kg/d y 17,03 kg.

Genotipado de SNP. Inicialmente se genotiparon, mediante el *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, San Diego, CA, USA), 65 muestras de ADN procedentes de siete verracos, seis cerdas cubiertas por tres de ellos y sus 52 hijos nacidos en tres camadas de parentesco máximo y tres de parentesco mínimo entre sus progenitores (Silió et al., 2010). A partir de los genotipos de 59.895 SNPs de los que sólo 40.200 son polimórficos en cerdos Ibéricos, se seleccionaron 192 SNPs con frecuencias intermedias, distribuidos por cada uno de los 18 autosomas, y teóricamente aptos para su genotipado simultáneo mediante *GoldenGate Genotyping Assay*. Este panel reducido se utilizó para el genotipado de los restantes animales, que se llevó a cabo como el de alta densidad en el Servei Veterinari de Genètica Molecular de la UAB. Sólo 168 sondas de las 192 del panel proporcionaron genotipos de SNPs con una resolución satisfactoria, lo que puede atribuirse al cambio de plataforma.

Análisis estadísticos. Para el cálculo de los coeficientes de consanguinidad genealógicos (F_G) se utilizó la genealogía completa, con 26,5 generaciones y 1.895 tríos animal, padre y madre. Los coeficientes de consanguinidad molecular fueron calculados como la proporción de SNPs homocigotos (idénticos por estado). A partir de los valores individuales de heterocigosidad por estado ($1 - F_{168SNP}$) y por ascendencia ($1 - F_G$), se estimó por regresión el valor de la heterocigosidad en la población fundacional ($1 - \sum p^2$), dada la relación ($1 - F_{168SNP}$) = $(1 - \sum p^2) (1 - F_G)$. Asumiendo el valor estimado de este parámetro, la expresión $F_{G/168SNP} = (F_{168SNP} - \sum p^2) / (1 - \sum p^2)$ permite inferir valores de consanguinidad genealógica

de la homocigosis molecular (Alves et al., 2008). Los efectos sobre el crecimiento diario (GMD, kg/d) y el peso a 90 días (Peso_{90d}, kg) de las diferentes medidas de consanguinidad consideradas se estimaron mediante un modelo animal bivariado, en el que, además de los efectos poligénicos y los del ambiente común de camada, se incluyeron: el sexo y la paridera, y como variable regresora el correspondiente coeficiente de consanguinidad (F_G , F_{168SNP} o $F_{G/168SNP}$). El análisis se realizó utilizando un procedimiento bayesiano mediante muestreo de Gibbs con el programa TM (Legarra et al., 2009).

Tabla 1. Media, desviación típica (SD) y rango de los coeficientes de consanguinidad genealógica (F_G), de homocigosis molecular (F_{168SNP}) y genealógica inferido de la molecular ($F_{G/168SNP}$) en 322 animales nacidos de apareamientos de máximo y mínimo parentesco

Consanguinidad	Máximo parentesco (n = 162)			Mínimo parentesco (n = 160)		
	Media	SD	Rango	Media	SD	Rango
F_G	0,353	0,042	0,269 / 0,386	0,175	0,005	0,168 / 0,188
F_{168SNP}	0,604	0,055	0,458 / 0,738	0,501	0,042	0,405 / 0,617
$F_{G/168SNP}$	0,319	0,095	0,069 / 0,550	0,142	0,072	-0,023 / 0,341

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los principales estadísticos de los coeficientes de consanguinidad molecular calculados con los 168 SNPs correctamente genotipados (F_{168SNP}) se presentan en la Tabla 1, junto con los coeficientes de consanguinidad genealógica calculados del pedigrí (F_G). Conforme a lo esperado los primeros son superiores a los segundos, debido a que el valor estimado de la heterocigosidad por estado de la población fundacional (0,582) difiere claramente de uno. Los estadísticos de los coeficientes de consanguinidad genealógica inferidos de los SNPs genotipados ($F_{G/168SNP}$) muestran una elevada dispersión, que incluye valores negativos como es usual en este tipo de estimadores (Toro et al., 2002). Debido al fallo de genotipado de un 12,5 % de los SNPs, la correlación entre F_G y F_{168SNP} es algo inferior ($r = 0,762$) a la obtenida para el panel completo de 192 SNPs ($r = 0,845$) (Silió et al., 2010). El mismo valor de correlación ($r = 0,762$) se obtiene si sólo se consideran para el cálculo de F_G las cinco últimas generaciones.

La media y desviación típica de las distribuciones marginales posteriores de los efectos de los tres coeficientes de consanguinidad (b) sobre los caracteres analizados se muestran en la Tabla 2. Los valores de la probabilidad de que los efectos sobre GMD sean positivos [Probabilidad Posterior ($b > 0$)] son de cuarenta a setenta veces inferiores a los de la probabilidad de ser negativos. Si se expresa la depresión consanguínea como la reducción porcentual de la media de GMD debida a un 10% de aumento de F , los efectos estimados a partir de F_G , F_{168SNP} y $F_{G/168SNP}$ equivalen a -3,78, -3,91 y -2,24%, respectivamente. Los resultados relativos a Peso_{90d} ofrecen una mayor incertidumbre. En este caso, los efectos de depresión consanguínea estimados a partir de los mismos coeficientes equivalen a -0,85, -1,21 y -0,71% de la media de Peso_{90d}, respectivamente. La probabilidad de que estos efectos sean positivos es sólo de tres a cuatro veces inferior a la de que sean negativos.

Tabla 2. Principales estadísticos de las distribuciones marginales posteriores de los efectos sobre Ganancia media diaria (GMD) y Peso a 90 días (Peso_{90d}) de tres diferentes coeficientes de consanguinidad: genealógico (b_{FG}), molecular ($b_{F168SNP}$) y genealógico inferido de la información molecular ($b_{FG/168SNP}$)

Carácter / Efecto de consanguinidad (b)	Media Posterior de b	Desviación Típica Posterior de b	Probabilidad Posterior ($b > 0$)
GMD, kg/d			
b_{FG}	- 0,059	0,027	0,014
$b_{F168SNP}$	- 0,061	0,030	0,022
$b_{FG/168SNP}$	- 0,035	0,017	0,024
Peso _{90d} , kg			
b_{FG}	- 1,448	2,129	0,248
$b_{F168SNP}$	- 2,061	2,342	0,188
$b_{FG/168SNP}$	- 1,213	1,368	0,186

El examen de estos resultados sugiere que los efectos de la consanguinidad esperada (genealógica) no presentan diferencias con los de la consanguinidad realizada (molecular). La menor magnitud y mayor incertidumbre de los efectos sobre $Peso_{90d}$ pueden atribuirse a la dependencia de este carácter de algunos factores (genotipo maternal) no considerados en el modelo. Todos los efectos de los valores transformados de la consanguinidad molecular a la escala genealógica ($F_{G/168SNP}$) son inferiores a los de los otros coeficientes. Debe notarse que, en una población cerrada, sólo los apareamientos recientes contribuyen a la dispersión del parentesco y consanguinidad resultante siendo uniforme la contribución a éstos de los apareamientos antiguos (Wray y Thompson, 1990; Toro et al., 2002).

En poblaciones ganaderas, como la piara de 'El Dehesón del Encinar', en que se dispone de información genealógica profunda y fiable, la utilización de coeficientes de consanguinidad molecular, no aporta información adicional relevante en cuanto a la predicción de la depresión consanguínea aun cuando estén basados en un alto número de genotipos. Sin embargo, en otras poblaciones los coeficientes de consanguinidad basados en un número no inferior a 150 SNPs informativos podrían sustituir eficazmente a coeficientes basados en genealogías de muy limitada profundidad o calidad cuestionable. En todo caso, el factor crítico en estos estudios es la dispersión de la consanguinidad (parentesco) en la población objeto de estudio, muy relacionada con los sistemas de apareamiento y la tasa reproductiva de cada especie doméstica o silvestre (Toro et al., 2002; Csilléry et al., 2006).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E., Barragán, C. & Toro, M.A. 2008. Span. J. Agric. Res. 6(2): 248-251.
- Ballester et al. 2007. Anim. Genet. 38: 662-666.
- Csilléry et al. 2006. Genetics 173: 2091-2101.
- Fernández, A., Rodríguez, J., Toro, M.A., Rodríguez, M.C. & Silió, L. 2002. J. Anim. Sci. 80: 2267-2275.
- Legarra, A., Varona, L. & López de Maturana, E. 2008. TM Threshold Model.
- Ramos et al. 2009. Plos One 4(8): e6524.
- Rohrer et al. 2007. Anim. Genet. 38: 253-258.
- Silió, L., Fernández, A., Mercadé, A., Martín-Palomino, P., López, M.A., Rodríguez, J. & Ovilo, C. 2010. 9th WCGALP, Leipzig, Alemania, 1-6 Agosto 2010, Paper 0480.
- Toro, M.A., Barragán, C., Rodríguez, J., Rodríguez, M.C. & Silió, L. 2002. Conserv. Genet., 3: 309-320.
- Wray, N.R. & Thompson, R. 1990. Genet. Res. 55: 41-54.

Agradecimientos: Este trabajo está enmarcado en el proyecto de investigación RZ2008-00026-00. Agradecemos la colaboración de Jaime Rodríguez y del personal del CIA 'Dehesón del Encinar' (Oropesa, Toledo), así como la asistencia técnica de Fabián García, Yolanda Núñez y Judit Salces (INIA) y Anna Mercadé (UAB).

PIG ENDOGAMY

ABSTRACT: The use of markers-derived metrics has been suggested to infer relative inbreeding from the homozygosity of markers. Automated genotyping systems yield accurate genotypes of multiple SNPs which are useful markers for this goal. In the present study, 322 pigs of the Torbiscal closed strain of Iberian pigs have been genotyped for 192 selected SNPs, using the *GoldenGate Genotyping Assay*. The animals proceed from 56 litters born from minimum or maximum coancestry matings. Inbreeding coefficients were calculated from the complete pedigree (F_G), the molecular homozygosity of 168 available SNP genotypes (F_{168SNP}) or inferred from the molecular homozygosity ($F_{G/168SNP}$). Weight at 90 days and daily gain data were available for each pig. The effects on growth performance of these coefficients were analyzed in a Bayesian framework via Gibbs sampling. Inbreeding depression, expressed as the performance decrease relative to the mean, per 10% of increase of each inbreeding coefficient, was -0.85, -1.21 and -0.71% for weight at 90d, and -3.78, -3.91 and -2.24% for daily gain, respectively. In absence of good quality pedigree, inbreeding effects could be predicted using marker-based coefficients.

Keywords: Iberian pig, inbreeding depression, marker based inbreeding.

RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y AMBIENTALES DEL AGUA Y EL GRADO DE INTROGRESIÓN GENÉTICA ENCONTRADO EN LAS POBLACIONES DE TRUCHA COMÚN EN RÍOS ARAGONESES

Mitjana, O.¹, Alabart, J.L.², Blasco, J.M.², Clavero, J.L.³, Josa, A.¹ y Espinosa, E.¹

¹Unidad de Reproducción. Facultad Veterinaria. Zaragoza. España. omitjana@unizar.es

²CITA-DGA. Zaragoza. España

³Dirección General del Medio Natural. D.G.A. Zaragoza. España

INTRODUCCION

La trucha común "*Salmo trutta fario*" es una de las especies más apreciadas para la pesca deportiva en Europa, considerándose un importante recurso turístico-económico en muchas regiones. Durante muchas décadas la gestión de este recurso en nuestro país ha consistido mayoritariamente en el uso de repoblaciones reiteradas con stocks de truchas alóctonas criadas en piscifactorías. Dichas introducciones han producido una degradación genética (conocida generalmente como introgresión) muy importante en nuestras poblaciones autóctonas. Uno de los factores que hay que tener en cuenta para estimar el potencial daño genético producido dichas repoblaciones es la tasa de supervivencia o la capacidad de migración de estas poblaciones repobladas en los ríos donde han sido introducidas. Estudios previos realizados en España (Almodóvar et al., 2006, Martínez et al., 1993) sugieren que existe una relación importante entre las condiciones medioambientales y el grado de introgresión de las poblaciones de trucha en distintos ríos. Por ejemplo, los estudios de Martínez et al. (1993) sugieren que las poblaciones de pequeños ríos gallegos poseen menores tasas de introgresión que las residentes en lagos, si bien estudios llevados a cabo en Dinamarca (Hansen et al., 2009) y Noruega (Heggenes et al., 2005) sugieren lo contrario, con poblaciones residentes en lagos presentando tasas de introgresión muy bajas.

El objetivo de este trabajo fue confrontar los primeros datos de introgresión genética obtenidos en varias poblaciones de trucha en Aragón y tratar de correlacionarlos con los parámetros de calidad físico-químicos de los puntos de muestreo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La tasa de introgresión genética se calculó en función de la presencia (expresada en porcentaje de individuos) del alelo LDH C1*90, fijado en las poblaciones centroeuropeas alóctonas usadas para la repoblación de los ríos Aragoneses. Por el contrario, nuestras poblaciones autóctonas del área de estudio poseen fijado el alelo LDH C1*100. La técnica de PCR-RFLPs descrita por McMeel et al. (2001) fue la utilizada para comprobar el grado de introgresión de las poblaciones muestreadas. El grado de introgresión se clasificó en 4 categorías: salvaje (ausencia del alelo LDH C1*90), baja (presente en menos del 10% de individuos), alta (10-50%) y severa (mayor del 50%) teniendo en consideración los criterios descritos por Almodóvar et al. (2006). Los datos hidrológicos se obtuvieron de 16 estaciones de la red de control de calidad de aguas superficiales de la Confederación Hidrográfica del Ebro (CHE), en función de la proximidad a los tramos muestreados. El periodo de estudio fue el comprendido entre 1995 y 2005, siendo los parámetros registrados: el pH, conductividad a 20°C ($\mu\text{S}/\text{cm}$), porcentaje de saturación de oxígeno (%), bicarbonatos ($\text{mg}/\text{CO}_3\text{Ca}$) y temperatura del agua ($^{\circ}\text{C}$).

La correlación entre el grado de introgresión con los parámetros físico-químicos descritos anteriormente, así como con su desviación estándar (d.s.), coeficiente de variación ($\text{d.s.} \cdot 100/\bar{x}$), valores máximo y mínimo, se analizaron mediante el coeficiente de correlación de Spearman con el paquete estadístico SAS. Las diferencias entre las diferentes categorías de introgresión y los parámetros mencionados anteriormente se analizaron mediante ANOVA y test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSION

El grado de introgresión se encontró correlacionado significativamente tanto con los valores mínimos del pH, desviación estándar del porcentaje de saturación de O_2 , así como en los valores mínimos de temperatura (Tabla 1). Es decir, temperaturas mínimas más elevadas,

valores más altos de pH mínimo, así como mayores variaciones en el grado de saturación de oxígeno, se asociaron a niveles de introgresión más elevados

En cuanto a la saturación de O₂, las poblaciones con baja introgresión habitan en aguas cuyos coeficientes de variación son menores, tienen una menor desviación estándar y valores más altos en el porcentaje de saturación mínimo respecto a las poblaciones con introgresión severa (Tabla 2). Por otra parte, parece existir también una cierta tendencia de las poblaciones con introgresión baja a ser más exigentes en el porcentaje de saturación que las salvajes. Las poblaciones con introgresión severa ocupan lugares con mayores variaciones y valores mínimos. Aunque la temperatura del agua no difirió significativamente entre poblaciones, sí se observó una tendencia de las poblaciones salvajes o con baja introgresión a vivir en temperaturas más extremas que las poblaciones con introgresión alta o severa. En resumen, aguas con pH mínimos más altos, mayores variaciones del porcentaje de la saturación de oxígeno y temperaturas mínimas más altas se corresponden generalmente con poblaciones con mayores tasas de introgresión. Todos estos resultados coinciden en parte con los de Almodovar et al., (2006), si bien nosotros no encontramos diferencias significativas con respecto a los bicarbonatos y la conductividad del agua.

Al relacionar el grado de introgresión con las características medioambientales de los tramos muestreados, encontramos que poblaciones más salvajes (tasas de introgresión nulas o bajas) se encuentran en aguas con caudales medios más altos, mayores variaciones y caudales máximos mayores. Por el contrario, las poblaciones con una introgresión severa se sitúan generalmente en caudales medios, mínimos y máximos más bajos, es decir en lugares de poca corriente y caudales constantes, mientras que las otras poblaciones pueden vivir en los puntos de mayores corrientes y más variación de caudal. Nuestros resultados globales son coincidentes también con los encontrados por otros autores. En conclusión, las poblaciones con mayor introgresión (normalmente poblaciones repobladas periódicamente) suelen habitar en los tramos de ríos en principio más estables, es decir, con menores variaciones de caudales y mejores características físico-químicas, lo que podría afectar negativamente a los ejemplares nativos puros, relegándolos a las partes del río más desapacibles (Almodovar et al., 2006; Williams et al., 1997). En consecuencia, una profunda revisión de las políticas de repoblación debería ser realizada si lo que se persigue es la conservación de nuestras poblaciones autóctonas de trucha.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almodovar, A., Nicola, G., Elvira, B. & Garcia-Marin, J.L. 2006. Introgression variability among Iberian brown trout Evolutionary Significant Units: the influence of local management and environmental features. *Freshwater Biol.* 51: 1175-1187.
- Hansen, M.M., Fraser, D., Meier, K., & Mensberg, K. 2009. Sixty years of anthropogenic pressure: a spatio-temporal genetic analysis of brown trout populations subject to stocking and population declines. *Mol. Ecol.* 18: 2549–2562
- Heggenes, J., Skaala, Ø., Borgstrøm, R. & Igland, O.T. 2005. Minimal gene flow from introduced brown trout (*Salmo trutta* L.) in the local population of a Norwegian lake after 30 years of stocking. *J. Appl. Ichthyol.* 21:1-6.
- McMeel, O.M., Hoey, E. & Ferguson, A. 2001. Partial nucleotide sequences, and routine typing by PCR-RFLP, of the brown trout (*Salmo trutta*) lactate dehydrogenase, LDH-C1*90 and *100 alleles. *Mol. Ecol.* 10: 29-34.
- Martínez, P., Aria, S J., Castro, J. & Sánchez, L. 1993. Differential stocking incidence in brown trout (*Salmo trutta*) populations from north- western Spain. *Aquaculture*, 114:203-216.
- William, R.N., Leary, R.F & Current, K.P. 1997. Localized genetic effects a long term hatchery stocking program on resident rainbow trout in teh Metolius River, Oregon. *North American Management* 17: 1079-1093

Tabla 1. Valores medios y rango (entre paréntesis) de la media, desviación estándar, coeficiente de variación, y máximo y mínimo de los parámetros físico-químicos estudiados: pH, conductividad a 20°C (µS/cm), Bicarbonatos (mg/CO₃Ca), saturación de oxígeno (%) y temperatura del agua (°C) y el coeficiente de correlación (r) entre dichas variables y el grado de introgresión.*: P<0.05; **: P<0.01.

	VALOR MEDIO	DESVIACION STANDARD	COEFICIENTE VARIACION	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO
pH (n=53)	8.06(7.6-8.3) r= 0.17	0.21(0.18-0.3) r= -0.19	2.69(2.2-3.6) r= -0.16	7.43(6.8-7.8) r= 0.38**	8.42(8-8.7) r= 0.08
Conductividad (N=53)	411(129-1124) r= 0.17	86.89(36.6-554) r= 0.20	20.57(10-49.3) r= 0.07	255(51-758) r= -0.01	637(206-2830) r= 0.20
Bicarbonatos (N=17)	177(146-224) r= 0.31	18.14 (8-27.8) r= 0.36	10.13 (3-13.6) r= 0.45	146(127-211) r= -0.14	209(162-242) r= 0.09
Saturación O₂ (N=53)	96.23 (84-144) r= 0.04	11.1(5.9-31.5) r= 0.31*	11.44 (6.1-24) r= 0.11	68.13(13-95) r= 0.31	125(102-200) r= -0.18
Temperatura (N=53)	11.78(6.4-14.8) r= -0.18	4.35(1.9-6.7) r= 0.06	38.87(13-55.4) r= 0.14	1.94(0-5) r= 0.33**	20.85(15.2-27) r= -0.13

Tabla 2. Valores medios ± error Estándar del pH (valores medio y mínimo); porcentaje de saturación de oxígeno (desviación estándar, coeficiente de variación y valor mínimo), en relación a las poblaciones clasificadas según su tasa de introgresión (de acuerdo a los criterios descritos por Almodóvar *et al.*, 2006) . a, b: p>0.05.

POBLACIÓN	pH		Saturación O ₂		
	Valor medio	Valor mínimo	Desviación Standard	Coeficiente/variación	Valor mínimo
SALVAJE (n=20)	8.0±0.07 ^b	7.3±0.06 ^b	11.9±1.6 ^{ab}	11.7±1.0 ^{ab}	70.0±3.4 ^{ab}
BAJA (n=8)	8.2±0.02 ^a	7.5±0.13 ^{ab}	8.0±0.8 ^b	8.2±0.89 ^b	76.4±4.9 ^a
ALTA (n=17)	8.1±0.06 ^{ab}	7.5±0.06 ^{ab}	10.8±1.1 ^{ab}	11.6±1.3 ^{ab}	65.9±5.6 ^{ab}
SEVERA (n=8)	8.1±0.04 ^{ab}	7.6±0.06 ^a	12.9±0.6 ^a	13.7±0.7 ^a	59.3±6.7 ^b

RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC INTROGRESIÓN IN BROWN TROUT POPULATIONS AND PHYSICOCHEMICAL AND ENVIRONMENTAL FEATURES IN NORTH-EASTERN RIVERS IN SPAIN

ABSTRACT: We tried to correlate the level of genetic introgression in native brown trout populations with some physicochemical and environmental features. Introgression rates were calculated according the presence (assessed by PCR-RFLP as described by Mc Meel *et al.* 2001) of the LDH C1*90 allele in the populations, which is fixed in central European populations used for restocking, whereas LDH C1*100 is the fixed allele in wild Mediterranean populations in the area of study. Water quality variables were obtained from Confederación Hidrográfica del Ebro data in 10-year series before sampling. Physicochemical characteristics as conductivity, pH, bicarbonates, temperature and Oxygen saturation were analyzed. Average, minimum and maximum, standard deviation and coefficient of variation were calculated for each of the above parameters. Populations were classified as wild (0% introgresión), low affected (less than 10% individuals), highly affected (10-50%) and severely affected (more than 50%). We found that highly affected populations are generally associated to higher minimum temperature and pH as well as to wide oscillations in oxygen saturation levels. Success in restocking using stocks of Atlantic domestic trout is strongly influenced by environmental features. Fortunately, wild populations show a better adaptation being able to colonise the most adverse environments. Restocking policies should be fully revised to preserve wild trout populations.

Keywords: brown trout, genetic, introgression, environmental features.

VARIABILIDAD NUCLEOTÍDICA Y ESTRUCTURA POBLACIONAL EN CERDOS CRIOLLOS CUBANOS

Ramayo, Y., Pérez-Pineda, E., Pérez-Enciso, M. y Ramos-Onsins, S. E.
Dept. Genètica Animal, Centre de Recerca en Agricultura Genòmica, Edifici CRAG, Campus UAB, Bellaterra 08193. España. E-mail: sebastian.ramos@uab.es

INTRODUCCIÓN

El cerdo Criollo Cubano vive y se procrea en estado semiferar, en un medio agreste frente a condiciones adversas creadas por largos periodos de sequía y calor. Algunos autores sugieren un origen predominantemente Ibérico del cerdo criollo cubano (Velázquez et al, 1998; Rico, 1999; Calderín, 2002). Durante el inicio del siglo XX, y como resultado de la introducción en Cuba de razas procedentes de los Estados Unidos y Europa, el cerdo criollo ha sufrido un proceso de introgresión no controlada, fundamentalmente con cerdos de las razas Duroc Jersey y Hampshire (Diéguez et al., 1994). Pérez-Pineda (2004) empleando un panel de 20 microsatélites FAO/ISAG (1998) mostró la primera evidencia molecular que confirman el origen ibérico del criollo cubano e introgresión con cerdos de las razas Duroc y Hampshire. El presente trabajo tiene como objetivos describir los patrones de variabilidad del cerdo criollo cubano utilizando la región *Control* y *Citocromo b* del ADN mitocondrial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal: Las muestras de tejidos fueron obtenidas del pabellón de la oreja en el año 2008. Se analizaron un total de 30 muestras en 6 localidades de 5 provincias del país que representan las 3 regiones geográficas en las que se divide la Isla: occidente, centro y oriente.

Análisis de secuencias: Para cada gen amplificamos dos fragmentos utilizando los cebadores descritos por Alves et al. (2003). Los fragmentos previamente obtenidos fueron purificados y secuenciados en ABI Prism 3730 (Applied Biosystems). La edición se realizó con SeqScape v2.6 (Applied Biosystems).

Análisis de variabilidad y de diferenciación poblacional: Los niveles de variabilidad se han calculado utilizando el programa DnaSP v5.0 (Rozas et al., 2003). Para evaluar la variabilidad interpoblacional se recopiló un total de 121 secuencias de ambos genes de GenBank. El programa SPAGeDi v1.2 (Hardy y Vekemans, 2002) fue empleado para determinar la existencia de patrones filogeográficos al comparar por test de permutación (1000 replicas) los valores del *Fst* con los del *Nst*. Se identificaron barreras geográficas mediante Barrier v2.2 (Manni y Guérard, 2004). La representación de redes haplotípicas se realizó con NetWork v4.510 (Bandelt et al., 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estimaron los niveles y patrones de variabilidad en las diversas localidades estudiadas para las regiones *D-loop* y *CytB*. La Tabla 1 muestra elevados niveles de variabilidad nucleotídica y haplotípica observados en diferentes localidades cubanas.

El análisis de estructuración poblacional mostró una significativa diferenciación entre las regiones Este, Central y Oeste. Estas regiones no muestran ningún patrón de gradación correlacionado con la distancia. La Figura 1 representa la diferenciación poblacional en la isla de Cuba.

La variabilidad encontrada en la isla es relativamente alta en comparación a la variabilidad de individuos de razas locales y de jabalies en Europa ($\pi=0.0022$ en Europa vs $\pi=0.0057$ en Cuba). Un número importante de haplotipos observados en cerdos criollos no han sido descritos hasta ahora. Además, la alta variabilidad observada es en parte debida a la presencia de un haplotipo con alta similitud a individuos Asiáticos (Figura 2). La variabilidad en cerdo criollo es, sin embargo, menor que la variabilidad en muestras Asiáticas ($\pi=0.0089$). Este patrón haplotípico inusual sugiere la introducción de individuos con haplotipos provenientes del continente Asiático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves, E., Ovilo, C., Rodríguez, M.C. & Silió, L. 2003. *Anim. Genet.* 34(5):319-24.
- Bandelt, H., Forster, P. & Rohl, A. 1999. *Mol. Biol. Evol.* 16(1): 37-48.
- Diéguez, E. 1993. *Agricultura* 726: 70-73.
- FAO. 1998. Roma.
- Hardy, J. & Vekemans, X. 2002. *Mol. Ecol. Notes* 2 (4):618-20.
- Librado, P. & Rozas, J. 2009. *Bioinformatics* 25 (11):1451-2.
- Manni, F., Guerard, E. & Heyer, E. 2004. *Human Biol.* 76(2): 173-190.
- Pérez-Pineda, E. (2004). Tesis. Universidad de Granma, Bayamo.
- Rico, C. 1999. Maracay, Venezuela.
- Velázquez, F., Barba, C., Pérez, E. & Delgado, J.V. 1998. *Rev. ACPA* 4:46-7.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por las ayudas del Ministerio de ciencia e Innovación (MICINN) AGL2007-65563-C02-01/GAN, CGL2009-09346 y el proyecto Consolider. Y. Ramayo es becario del programa de Formación de Personal Universitario (AP2008-01450) y realizó este trabajo financiado por una Beca del IAMZ. Agradecemos la colaboración en la toma de muestras de Isabel Santana y Carlos Abeledo así como al campesinado de Pinar del Río y Granma.

Tabla 1. Variabilidad en muestras de diferentes localidades Cubanas.

Localidades	N _o	Variabilidad Haplótica		Variabilidad Nucleotídica			
		h	Hd	S	π	θ	Singletons
Pinar del Río	10	7	0,911	43	0,01023	0,00823	2
Habana	5	3	0,700	12	0,00304	0,00312	8
Cabaiguan	5	2	0,400	7	0,00152	0,00182	7
UDG	3	2	0,667	4	0,00145	0,00144	4
Guisa	7	7	0,964	9	0,00229	0,00188	1
Banes	2	2	1	1	0,00054	0,00054	1
Cuba todas	32	18	0,944	52	0,00565	0,00699	7

N_o número de secuencias, **h**: número de haplotipos, **Hd**: Diversidad haplotípica, **S**: número de sitios variables, π : media de diferencias nucleotídicas, θ : diversidad nucleotídica Singletons: variantes únicas.

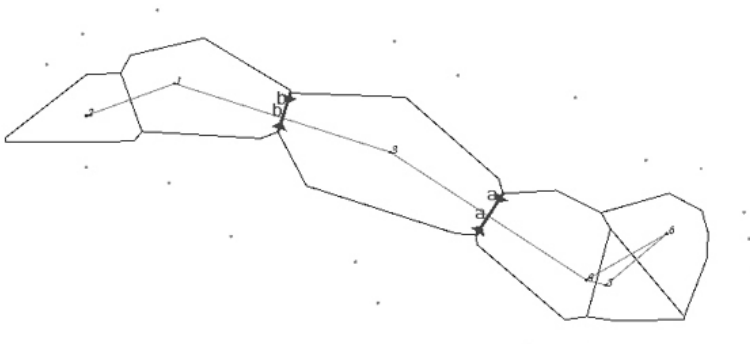


Figura 1. Barreras más significativas entre poblaciones criollas cubanas.

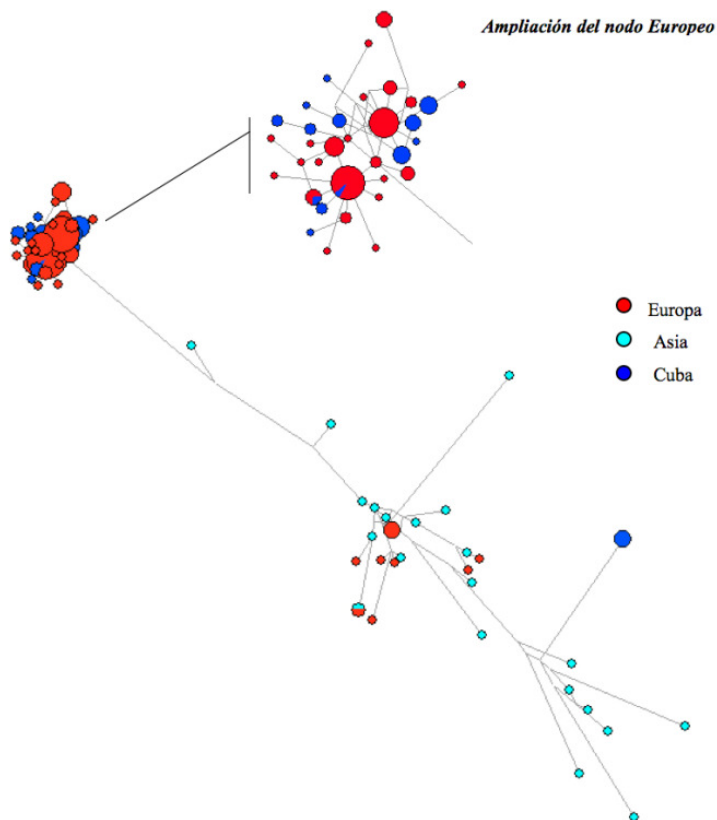


Figura 2. Median-joining network de haplotipos de cerdos criollos cubanos, Europeos y Asiáticos.

NUCLEOTIDE VARIATION AND POPULATION STRUCTURE IN CUBAN CREOLE PIGS

ABSTRACT: The Cuban Creole pig lives in semiferal conditions with periods of dry and starving conditions. They have been adapted to tropical conditions in few hundred years. It is thought that Cuban Creole pigs have an Iberian pig origin but recently have been introgressed with other breeds from Europe and USA. Nucleotide diversity for Creole individuals shows high variability and an important population structure across the island. An important number of Creole haplotypes have not yet been described. The presence of a divergent Creole haplotype related to Asian haplotypes suggests the introgression of individuals with Asiatic origin.

Keywords: demography, population genetics, mitochondrial DNA.

DIVERSIDAD GENÉTICA EN LAS RAZAS DE GALLINAS DEL PROGRAMA DE CONSERVACION DEL INIA

Dávila, S. G. ¹, Gil, M. G. ¹, Resino-Talaván, P. ¹ y Campo, J. L. ¹

¹Departamento de Mejora Genética Animal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Apartado 8111, 28080 Madrid.
e-mail: ggil@inia.es

INTRODUCCIÓN

Las razas locales son una reserva de variabilidad que merece ser investigada y tratada adecuadamente. Con el desarrollo de la avicultura industrial en los años 50 y 60 y la creación de híbridos para producir huevos y carne, el número de razas tradicionales cayó drásticamente casi hasta el punto de su extinción.

En el año 1975 el Departamento de Mejora Genética Animal del INIA inició el Programa de Conservación de Razas Españolas de Gallinas (Campo y Orozco, 1982). El objetivo que tenía este programa era mantener la diversidad de razas que existían en España. Algunas de las gallinas españolas que forman parte del programa son especialmente singulares: la Castellana Negra, la raza mediterránea más antigua introducida por los árabes en el siglo VIII, la Española Cara Blanca, única raza existente en el mundo con la cara blanca, y la Andaluza Azul, portadora del gen azul en heterocigosis.

Los recientes avances en la tecnología molecular han abierto nuevos horizontes para la estimación de la relación genética entre y dentro de las poblaciones animales, proporcionando los marcadores moleculares una herramienta muy importante para las estrategias de conservación. Hasta el momento los marcadores microsatélites se han utilizado en diferentes estudios para determinar la diversidad de las razas de gallinas. Muchos de ellos se han hecho en las razas de gallinas asiáticas (Takahashi et al, 1998; Zhang et al, 2002; Osman et al, 2006; Ya-Bo et al, 2006; Tadaño et al., 2007). Wimmers et al. (2000) estudiaron la diferencia genética entre gallinas de África, Asia y Sudamérica, y Romanov y Weigend (2001) analizaron las relaciones genéticas entre diversas razas de gallinas europeas y su antepasado salvaje. En el Proyecto AVIANDIV (Hillel et al., 2003) se analizaron las relaciones genéticas entre gran número de razas de gallinas de Europa, Asia y África, y Berthouly et al. (2008) estudiaron la diversidad genética de las razas de gallinas francesas y asiáticas, comparándola con las del proyecto AVIANDIV. Por último, Twito et al. (2007) compararon la biodiversidad de 20 razas de gallinas mediante SNPs y marcadores microsatélites, observando que cuando se utilizan microsatélites las asignaciones de los individuos a las poblaciones son más correctas debido a la naturaleza multialélica de este tipo de marcadores.

En este trabajo se presentan los resultados de la investigación de la variabilidad genética de las razas incluidas en dicho programa de conservación, 13 razas de gallinas españolas, una línea trigueña recesiva y una población Leghorn Blanca usando 24 marcadores microsatélites. Las distancias genéticas entre estas razas se han incluido en el Catálogo de Razas Españolas de Gallinas publicado en 2010 por el INIA (<http://www.inia.es/>)

MATERIAL y METODOS

Se utilizaron un total de 24 gallinas de cada una de las 15 poblaciones que se mantienen en la granja experimental de El Encin (Madrid), 6 ponedoras de huevo blanco (Castellana Negra, Española Cara Blanca, Menorca Negra, Andaluza Azul, Andaluza Perdiz y Andaluza Franciscana), 2 de huevo crema (Prat Leonada y Prat Blanca), y 2 ponedoras de huevo marrón (Vasca Barrada y Villafranguina Roja). La raza Leonesa (Parda e India) se usa para producir mosca artificial a partir de las plumas para su uso en los anzuelos de pesca. En este trabajo también se incluían una raza sintética, la Castellana Codorniz (Campo y Orozco, 1986), una línea trigueña recesiva (Smyth, 1976), y una población Leghorn Blanca (Campo y Jurado, 1982).

Se tomaron muestras de sangre mediante punción en la vena braquial con tubos estériles con EDTA como anticoagulante. Para la extracción de ADN, se siguió un protocolo clásico a partir de 40 μ l de sangre entera, obteniéndose una disolución final de DNA de 15 ng/ μ l. Se escogieron 24 marcadores microsátélites, elegidos por su localización genómica y su grado de polimorfismo. La amplificación de los marcadores se realizó mediante PCR. El genotipado de los productos de PCR se realizó con un secuenciador ABI 370 DNA Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA) por electroforesis capilar con marcaje fluorescente. Se utilizaron los programas *POPGENE* (Yeh et al., 1999), *FSTAT* (Goudet., 2001), *DISPAN* (Ota, 1993), y *CERVUS* (Kalinowski et al., 2007) para el análisis de los resultados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se detectaron 150 alelos con los 24 microsátélites utilizados en todas las razas, de los cuales 72 no estaban presentes en la población Leghorn Blanca. El número medio de alelos por locus fue 6.25 y el número efectivo de alelos tenía un valor medio de 3.34. El contenido de información polimórfica media fue de 0.59. La heterocigosis observada fue menor que la esperada en todos los loci, el valor medio fue de 0.46 y 0.64, respectivamente. El déficit medio de heterocigotos dentro de poblaciones (F_{IS}), el índice de fijación medio de cada población (F_{ST}), y el déficit medio total de heterocigotos en la población (F_{IT}) fueron 0.06, 0.24, y 0.29, respectivamente.

La mayoría de los marcadores microsátélites utilizados en este estudio mostró un alto grado de polimorfismo. Los resultados de nuestro estudio fueron similares a los encontrados por Takahashi et al. (1998), Wimmers et al. (2000), Ya-Bo et al. (2006), Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008). El grado de heterocigosis esperada fue en general superior a 0.5, lo que sugiere la utilidad de estos marcadores para este tipo de estudio. Los valores obtenidos del índice medio de fijación (F_{ST}) indican un alto grado de diferenciación de la población. Normalmente, un índice de fijación de 0.15 se considera una indicación de la diferenciación significativa entre las poblaciones (Frankham et al., 2002.), este valor se dio en la gran mayoría de los loci. El índice de fijación media fue similar a los indicados anteriormente por Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008).

En la mayoría de las poblaciones la heterocigosis media esperada fue mayor que la observada. La heterocigosis media observada fue de 0.46, mientras que la heterocigosis media esperada fue de 0.49. Todas las razas españolas, excepto la Castellana Codorniz tenían un mayor grado de heterocigosis observada que la población Leghorn Blanca. El número de alelos por locus y raza osciló entre 3 y 4, con valor medio de 3.41. Cuatro de las razas estudiadas mostraron déficit de heterocigotos, mientras que las 11 restantes mostraron exceso, el valor promedio fue de 0.05. El número de loci que se desvió significativamente del equilibrio de Hardy-Weinberg variaba entre 1 y 6.

Los marcadores utilizados en este estudio pueden ser de gran interés para la identificación genética de los animales, se observaron 15 alelos específicos de raza en 10 de los loci microsátélites estudiados (en 6 de las poblaciones de gallinas españolas y en la población de Blanca Leghorn) y 15 alelos fijados en 7 de los loci para 9 de las poblaciones estudiadas. Los valores de la heterocigosis media observada en las 13 razas españolas están de acuerdo con los indicados por Hillel et al. (2003), Wimmers et al. (2000), Tadano et al. (2007), y Berthouly et al. (2008). Todas las poblaciones mostraron desviaciones significativas del equilibrio de Hardy-Weinberg, lo que sugiere que las razas españolas de gallinas han sido seleccionadas durante años para características morfológicas, aunque no se puede descartar que esto también pueda deberse a la presencia de alelos nulos o un error de genotipado.

Las distancias genéticas de Nei variaban entre 0.11 (entre la Española Cara Blanca y la Menorca Negra) hasta 0.44 (entre la Prat Leonada y Leghorn Blanca). La distancia genética entre las razas españolas ponedoras de huevo blanco y la Leghorn Blanca oscilaba desde 0.25 (Menorca Negra) y 0.35 (Andaluza Franciscana), mientras que la distancia genética entre las razas españolas y la Leghorn Blanca iba desde 0.25 hasta 0.45. En nuestro estudio, los dos razas españolas (Castellana Negra y Villafranquina Roja) que también formaban parte del proyecto AVIANDIV, tenían una distancia genética entre ellas y la población Leghorn Blanca menor que la que indicaban Hillel et al. (2003), que eran 0.43,

0.64 y 0.45 respectivamente. Esto puede deberse a que la población de Leghorn utilizada en nuestro estudio tiene un origen diferente a la utilizada en proyecto AVIANDIV que había sido seleccionada durante más generaciones para puesta, además los valores de distancias genéticas pueden depender del grupo en el que se incluyan las poblaciones estudiadas (52 en el proyecto AVIANDIV).

En conclusión, el panel de marcadores microsatélites que hemos usado en nuestro estudio puede ser de gran utilidad en el estudio de la diversidad genética en razas de gallinas, mostrando un alto grado de polimorfismo, y un alto grado de diferenciación de la población. Las razas españolas presentan un elevado número de alelos específicos y son más polimórficas que la población Leghorn Blanca, lo que sugiere gran potencial para su uso en sistemas de producción alternativa. A pesar de que las gallinas españolas tradicionalmente han sido seleccionadas para caracteres morfológicos, se encuentra una separación clara entre la Leghorn Blanca y las razas españolas, lo que indica la importancia de incluir a esas poblaciones en los programas de conservación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Berthouly et al. 2008. *Anim. Genet.* 39:121–129.
- Blackburn, H. D. 2006. *Poult. Sci.* 85:210–215.
- Campo, J. L. 1991. *Poult. Sci.* 70:1469–1473.
- Campo, J. L. & Jurado, J. J. 1982. *Proc. 2nd World Congr. Genet. Appl. Livest. Prod.*
- Campo, J. L. & Orozco F. 1986. *Br. Poult. Sci.* 27:361–367.
- Frankham. et al. 2002. Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
- Goudet, J. 2001. FSTAT, version 2.9.3. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> Accessed May 26, 2009.
- Hillel et al 2003. *Genet. Sel. Evol.* 35:533–557.
- Kalinowski, et al. 2007. *Mol. Ecol.* 16:1099–1106.
- Osman et al. *Jpn. Poult. Sci.* 43:12–22.
- Ota, T. 1993. *DISPAN*. Penn. State Univ., University Park, PA.
- Smyth, J. R., Jr. 1976. *Proc. 25th Poult. Breed. Roundtable.*
- Romanov, M. N. & Weigend, S.. 2001. *Poult. Sci.* 80:1057–1063.
- Tadano, R. 2007. *Poult. Sci.* 86:460–469.
- Takahashi et al. 1998. *J. Hered.* 89:543–546.
- Twito et al. 2007. *Cytogenet. Genome Res.* 117:319–326.
- Wimmers et al 2000. *Anim. Genet.* 31:159–165.
- Ya-Bo et al 2006. *Int. J. Poult. Sci.* 5: 550–556.
- Yeh et al. 1999. *POPGENE* (version 1.31).
- Zhang et al. 2002. *Poult. Sci.* 81:1463–1472.

GENETIC DIVERSITY AMONG CHICKEN BREEDS OF THE CONSERVATION PROGRAM OF THE INIA

ABSTRACT: The present study was conducted to evaluate the genetic variability and the genetic divergence of 13 Spanish chicken breeds, a tester line, and White Leghorn populations, using 24 microsatellite markers, 150 alleles were detected across all population. The number of alleles by locus ranged from 2 to 13, with the mean value being 6.25. The mean polymorphic information content was 0.59, ranging from 0.85 to 0.17. The observed heterozygosity was lower than the expected heterozygosity for all loci, the mean values being 0.46 and 0.64. The observed and expected heterozygosity ranged from 0.003 to 0.73 and 0.18 to 0.86, respectively. Mean deficit of heterozygotes within populations (F_{IS}) was 0.06 and mean fixation index of each population (F_{ST}) was 0.24. The mean global deficit of heterozygotes across populations (F_{IT}) was 0.29. A total of 15 private alleles in 10 microsatellites were observed, and in some populations, fixed alleles were found for 7 microsatellites. The average observed heterozygosity for each population was 0.46, ranging from 0.33 (Quail Castellana) to 0.54 (Red Villafranguina), and the average expected heterozygosity was 0.49, ranging from 0.32 (Quail Castellana) to 0.55 (White-Faced Spanish). All of the Spanish breeds except the Quail Castellana were more polymorphic than the White Leghorn population. The mean value of the deviation of heterozygote number was 0.05 breeds. Nei's genetic distance showed a range from 0.11 (between White-Faced Spanish and Black Menorca) to 0.44 (between Buff Prat and White Leghorn). The results indicate that the panel of microsatellite markers was useful in studying the genetic diversity of chicken breeds.

Keywords: Spanish breeds, chicken, microsatellite marker, genetic diversity.

ANÁLISIS DE LA UTILIDAD PARA ESTUDIOS GENÓMICOS DEL “*Illumina Ovine SNP50BeadChip*” EN RAZAS OVINAS ESPAÑOLAS

Gutiérrez-Gil, B.¹, García-Gámez, E.¹, Suárez-Vega, A.¹, Sánchez, J.P.², Kijas, J.³, Calvo, J.H.⁴, *International Sheep Genomics Consortium (ISGC)*, y Arranz J.J.¹

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. ²Departamento de Ciencia Animal, UPV, Valencia. ³CSIRO Livestock Industries (Australia). ⁴Unidad de Tecnología en Producción Animal, CITA, Zaragoza. E-mail: beatriz.gutierrez@unileon.es

INTRODUCCIÓN

El proyecto “Sheep HapMap” (www.sheepmap.org), desarrollado por el *International Sheep Genomics Consortium (ISGC)* tiene varios objetivos. Entre ellos podemos destacar los siguientes: el desarrollo y validación del *Ovine SNP50BeadChip*, el estudio de la diversidad genética entre razas, el análisis de la estructura poblacional, la medición del desequilibrio de ligamiento, la estimación del tamaño efectivo de las poblaciones ovinas, la detección de huellas de selección en las razas de diferente aptitud y el conocimiento del proceso de domesticación en esta especie animal. El desarrollo del *Ovine SNP50BeadChip* y su genotipado en muestras de 71 razas ovinas, de ellas cuatro españolas, y constituye un primer paso para llegar a cumplir los objetivos descritos y es, además, un instrumento fundamental para el desarrollo de las herramientas genómicas en el ganado ovino.

Para el desarrollo del Chip de SNPs se secuenció parcialmente el genoma de seis animales (uno por raza) pertenecientes a las razas Awassi, Merino Australiano, Poll Dorset, Romney, Scottish Blackface y Texel, utilizando técnicas de secuenciación de segunda generación que incluyen el 454-FLX y el *Illumina GA*. Las secuencias obtenidas fueron alineadas frente al genoma ovino generándose así el genoma virtual de la oveja (Dalrymple et al., 2007). De estas secuencias, aquellos lugares que presentaban un polimorfismo claro en varios de los animales y que presentaban una distribución uniforme a lo largo del genoma fueron seleccionados para ser incluidas en el Chip de 54.241 SNPs comercializado por *Illumina (Ovine SNP50BeadChip)*. En la elaboración de estas herramientas se ha detectado un sesgo que tiene que ver con las razas de animales en las que se utilizan. Así, tanto en el ganado porcino (Ramos et al., 2009) como en el bovino (McClure et al., 2011) se ha descrito que la utilidad de los marcadores puede estar claramente condicionada por la población animal que estamos analizando y su proximidad filogenética con las razas que fueron utilizadas en la secuenciación para la detección de SNPs y posterior elaboración del Chip. Con objeto de conocer el efecto del sesgo producido en el ganado ovino y de medir la utilidad de esta herramienta genómica de alto rendimiento en nuestras poblaciones ovinas se han analizado un total de 4 razas pertenecientes a diferentes troncos filogenéticos utilizando el *Ovine SNP50BeadChip de Illumina*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales utilizados en este estudio, a través de la participación de nuestro grupo de investigación en el proyecto *Sheep HapMap*, fueron: la raza Churra (CHU) (tronco Churro), razas Castellana (CAS) y Rasa Aragonesa (RAA) (tronco Entrefino), Ojalada (OJA) (tronco ibérico). Un total de 167 animales pertenecientes a las 4 razas, fueron seleccionados para el presente trabajo. La distribución por raza fue la siguiente: CHU (n = 100), CAS (n = 23), RAA (n = 20) y OJA (n = 24).

Se han utilizado los criterios de calidad estándar en este tipo de trabajos: se han eliminado los animales con una tasa de genotipos inferior al 97%, y con tasas de heterocigosis observada por encima del 40% y por debajo del 20%; se han eliminado SNPs con una MAF (frecuencia del alelo raro) igual o inferior a 0,01, si no se encontraban en equilibrio Hardy Weinberg ($P < 4,5 \cdot 10^{-6}$) o si presentaban inconsistencias en el modo de herencia en tríos de paternidad y maternidad comprobada.

Los criterios de calidad fueron analizados con las opciones disponibles en el software PLINK (1.06) (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>). Como medidas de la información aportada por el chip en las diferentes poblaciones se estimaron los siguientes parámetros poblacionales: proporción de alelos con MAF < 0,01 y > de 0,3, indicativos de marcadores poco informativos y muy informativos, respectivamente en cada población; heterocigosis media poblacional o diversidad génica y la heterocigosis individual (proporción de SNPs

heterocigotos en cada individuo); proporción media de alelos compartidos entre los individuos de cada población como D_{st} y definida como $(IBS2+0,5*IBS1)/N$, donde $IBS1$ y $IBS2$ es el número de loci con 1 o 2 alelos idénticos y N el número de individuos de la población.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los parámetros poblacionales obtenidos al analizar los 49.034 marcadores que han superado las pruebas de calidad en un total de 169 animales, se muestran en la Tabla 1. En la Tabla 2 se presentan los parámetros de informatividad de los marcadores en las razas ovinas secuenciadas para la producción del *Ovine SNP50BeadChip de Illumina*. El dato que presenta una mayor diferencia entre las dos tablas es el MAF. Se puede apreciar que para los SNPs más y menos polimórficos, en las razas utilizadas para la elaboración del Chip, el número de SNPs con $MAF < 0.01$ es prácticamente inexistente, mientras que en nuestras razas alcanza un 4,4% de los SNPs. En cuanto a los más polimórficos, el hecho de que en las razas del Chip haya menos SNPs que cumplan la condición en todas las razas, puede ser debido a las diferencias existentes entre ellas (distintos orígenes, aptitudes productivas, etc.), mucho mayores que las existentes entre las razas ovinas españolas.

En la Figura 1 se muestra la distribución de MAF en el Chip de SNPs para la raza ovina Churra. Estos datos están en concordancia con los obtenidos en el conjunto de las poblaciones (datos no mostrados), siendo el rango 0,4-0,45 el que muestra una mayor proporción de SNPs.

Este estudio constituye la confirmación de que el chip existente es muy informativo en las razas españolas analizadas y que el único sesgo que hemos detectado ha sido en la proporción de marcadores con $MAF < 0,1$. Por todo ello, podemos concluir que este chip de SNPs constituye una herramienta muy útil en estudios de asociación y búsqueda de genes con importancia económica en las razas autóctonas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Dalrymple, B. P., Kirkness, E. F., Nefedov, M., McWilliam, S., Ratnakumar, A., Barris, W., et al.; International Sheep Genomics Consortium. 2007. *Genome Biol.* 8: R152.
- McClure, M. C., Matakumali, L., Sonstegard, S., Curtis Van Tassell, P. & the Bovine HapMap Consortium. 2011. *Plant & Animal Genome XIX* P523.
- Ramos, A.M., Crooijmans, R. P. M. A., Affara, N. A., Amaral, A. J., Archibald, A. L. 2009. *PLoS ONE* 4: e6524.

Agradecimientos: Este trabajo forma parte del proyecto AGL2009-07000 financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. BGG es investigadora contratada a través del programa Juan de la Cierva (Ministerio de Ciencia e Innovación). EGG y ASV son becarias FPU (Ministerio de Educación).

Tabla 1. Parámetros de informatividad en las razas españolas.

	CAS		CHU		OJA		RAA		Razas Españolas	
Nº Animales	23		100		24		22		169	
MAF media	0.283		0.276		0.284		0.289		0.283	
	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP
MAF < 0.01	2.4	1158	1.7	834	1.9	909	1.5	732	4.4	2168
MAF > 0.3	50.6	24799	46.5	22808	48.6	23839	48.8	23920	22.8	11187
Heterocigosis Poblacional										
Observada	0.378		0.354		0.373		0.384		0.372	
Esperada	0.367		0.359		0.369		0.375		0.367	
Heterocigosis Individual										
Media	0.380		0.363		0.378		0.386		0.370	
Máximo	0.398		0.385		0.391		0.393		0.398	
Mínimo	0.354		0.277		0.356		0.363		0.277	
D_{st} (media)	0.704		0.713		0.702		0.697		0.698	

Tabla 2. Parámetros de informatividad en las razas utilizadas en la elaboración del Ovine SNP50BeadChip.

	Awassi		Merino		Poll Dorset		Romney		Scottish Blackface		Texel		Razas secuenciadas para la elaboración del Chip	
Nº Animales	23		50		108		24		56		24		285	
MAF media	0.224		0.286		0.262		0.266		0.274		0.260		0.262	
	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP	%	SNP
MAF < 0.01	13.9	6828	1.3	625	4.4	2135	4.5	2208	3.2	1582	5.2	2550	0.0	15
MAF > 0.3	37.8	18511	48.5	23806	44.2	21695	44.8	21986	47.1	23113	43.1	21121	2.5	1236
Heterocigosis Poblacional														
Observada	0.311		0.358		0.337		0.348		0.353		0.345		0.348	
Esperada	0.299		0.371		0.344		0.347		0.358		0.341		0.352	
Heterocigosis Individual														
Media	0.311		0.358		0.338		0.340		0.353		0.341		0.343	
Máximo	0.330		0.380		0.397		0.364		0.368		0.357		0.397	
Mínimo	0.266		0.289		0.272		0.297		0.329		0.290		0.266	
Dst (media)	0.762		0.697		0.724		0.713		0.712		0.721		0.672	

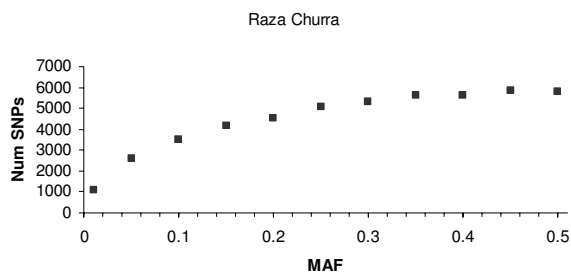


Figura 1. Distribución de los SNPs en función del MAF observado en la raza Churra.

ANALYSIS OF THE USEFULNESS of Ovine SNP50BeadChip (Illumina) FOR GENOMIC STUDIES IN SPANISH SHEEP BREEDS.

ABSTRACT: During the development of the Sheep HapMap project, ewes from 6 breeds (Awassi, Merino, Poll Dorset, Romney, Scottish Blackface and Texel) were used to obtain the sequence of the ovine genome and look for variability. The Ovine SNP50BeadChip (Illumina) was then genotyped in 71 breeds, four of which were Spanish breeds. In some species (pig and cow) a bias has been described when testing a SNP Chip in different breeds. The aim of this study was to analyse this possible bias due to the sheep breed in the Spanish populations included in the Sheep HapMap project. For this purpose, we estimated for both, the breeds used in the Chip development and the Spanish populations the following parameters: MAF within and between breeds, gene diversity, individual heterozygosity and average proportion of alleles shared within population. The results obtained in Spanish breed were similar to those observed in the six breeds sequenced during the SNP-chip development. These findings support the value of Ovine SNP50BeadChip for genomic analysis in Spanish sheep breeds.

Keywords: sheep, ovine SNP-chip, genetic variability

ESTUDIO DE LA ESTRUCTURA POBLACIONAL DE CUATRO RAZAS OVINAS ESPAÑOLAS MEDIANTE UN CHIP DE SNPs

García-Gámez, E.¹, Gutiérrez-Gil, B.¹, Kijas, J.², Calvo, J.H.³, *International Sheep Genomics Consortium (ISGC)*, y Arranz J.J.¹

¹Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León. ²CSIRO Livestock Industries (Australia). ³Unidad de Tecnología en Producción Animal, CITA, Zaragoza. E-mail: egarg@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Como consecuencia de la era genómica han surgido una gran cantidad de herramientas que, en el ámbito de la genética animal, nos permiten analizar el genoma de las diferentes especies. Estas herramientas surgen como consecuencia de los diferentes proyectos de secuenciación de los genomas animales y ofrecen unas grandes posibilidades de utilización en la mejora genética. Entre ellas podemos destacar, la selección de los reproductores con mayor eficiencia y menor intervalo generacional (Hayes et al., 2009) y la detección de forma eficiente de genes que controlan caracteres de importancia económica. En este último caso la técnica más comúnmente empleada es, siguiendo los esquemas empleados en la especie humana, el análisis de asociación del genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés). En la especie humana se han realizado numerosos estudios de asociación, principalmente con enfermedades (<http://genome.gov/gwastudies/>) y muchas de ellas no han podido ser replicadas en estudios posteriores existiendo dudas sobre la veracidad de dichos hallazgos. Una de las causas fundamentales para la detección de falsos positivos en los estudios de asociación es el la presencia de subestructuras poblacionales en aquellas poblaciones que se analizan como homogéneas (estratificación poblacional) (Price et al., 2010). En los animales domésticos ya se han publicado numerosos estudios de asociación con caracteres de importancia económica (Becker et al., 2010; Snelling et al., 2010) y también se ha detectado el efecto de la subdivisión poblacional en poblaciones que en principio se creían muy homogéneas (y que pueden sesgar los resultados de asociación Decker et al., 2010). En el presente trabajo pretendemos estudiar la estructura genética de las razas españolas analizadas en el experimento *Sheep HapMap* como paso previo a posteriores estudios de asociación utilizando esta herramienta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales utilizados en este estudio, a través de la participación de nuestro grupo de investigación en el proyecto *Sheep HapMap*, fueron: la raza Churra (CHU) (tronco Churro), razas Castellana (CAS) y Rasa Aragonesa (RAA) (tronco Entrefino), Ojalada (OJA) (tronco Ibérico) y Awassi (AWA) (raza extranjera, procedente de Israel). Un total de 190 animales pertenecientes a las 5 razas, fueron seleccionados para el presente trabajo. La distribución por raza fue la siguiente: CHU (n = 100), CAS (n = 23), RAA (n = 20), OJA (n = 24) y AWA (n = 23). De los 54.321 marcadores se han eliminado aquellos que no cumplían los requisitos de calidad: MAF (frecuencia del alelo raro) igual o inferior a 0,01, falta de ajuste a las condiciones del equilibrio Hardy Weinberg ($P < 4,5 \cdot 10^{-6}$) o presencia de inconsistencias en el modo de herencia. Entre los genotipos disponibles una vez aplicados estos filtros (49.034 SNPs), se seleccionaron dos subconjuntos. En el caso de análisis clúster con STRUCTURE se han elegido aquellos marcadores bien posicionados y con una distancia media entre ellos de 20 Mb y una representación de cada cromosoma equivalente a la existente en el *Ovine SNP50BeadChip* (Illumina, Inc), eligiéndose un total de 154 SNPs. Para el análisis con ADMIXTURE se han elegido aquellos marcadores que no muestran LD ($r^2 > 0,1$) en ventanas de 50 marcadores y se han utilizado un total de 11.869 SNPs. Las opciones disponibles en el software PLINK (<http://pngu.mgh.harvard.edu/~purcell/plink/>) se utilizaron para la selección de SNPs (--keep), el cálculo de las frecuencias alélicas (--freq), el test de equilibrio Hardy-Weinberg (--hardy), el cálculo del porcentaje de genotipos ausentes (--missing) y para la selección de marcadores para ADMIXTURE (--indep-pairwise). La medida de la distancia entre las razas estudiadas se llevó a cabo calculando el valor de F_{ST} por parejas de razas. Para dicho cálculo se utilizó el programa GENEPOP versión 4 (Raymond & Rousset, 1995).

El estudio de la estructura poblacional y la detección del número más probable de subpoblaciones, se realizaron mediante el software STRUCTURE versión 2.3 (Pritchard et

al., 2000). El análisis se realizó utilizando un modelo de no ligamiento, en el que se asume que ha habido mezcla entre las poblaciones de las que provienen los animales objeto de estudio, y suponiendo frecuencias alélicas independientes entre poblaciones. Para calcular el número de *clusters* (K), se utilizaron valores entre 1 y 10 con 5 repeticiones independientes del análisis. Cada una de las repeticiones, tuvo un periodo de *burn-in* de 20.000 iteraciones y, posteriormente, 100.000 réplicas para la obtención de resultados. El alineamiento de los resultados obtenidos en las repeticiones del análisis, se realizó con el programa CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007); posteriormente, el software DISTRUCT se utilizó para la visualización de los resultados. Los mismos cálculos se realizaron con el programa ADMIXTURE (Alexander et al., 2009) que realiza el mismo sistema de cálculo, pero es capaz de utilizar un mayor conjunto de datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis de las frecuencias genotípicas de los SNPs seleccionados, nos aportan información acerca de las diferencias entre razas. El valor de MAF medio en el conjunto de animales seleccionados fue variable entre 0,1042 y 0,4974. Estudiando cada una de las razas por separado, podemos observar que existen SNPs en las razas Awassi (17 SNPs) y Rasa Aragonesa (1 SNP) para los que no encontramos las dos variantes alélicas.

El estudio de la distancia entre poblaciones se basó en el cálculo del valor de F_{ST} medio entre todos los *loci* para las razas utilizadas en este trabajo. Las razas más cercanas fueron Ojalada y Rasa Aragonesa, con un valor de F_{ST} de 0,0181; las más alejadas fueron Awassi y Rasa Aragonesa ($F_{ST} = 0,2037$). Como media, el valor del F_{ST} entre Awassi y cada una de las razas ibéricas estudiadas, fue un orden de magnitud mayor que el existente entre las razas ibéricas.

En la Figura 1 se muestran los resultados obtenidos en STRUCTURE v.2.3, representados a través del programa DISTRUCT. El cálculo de la verosimilitud en forma logarítmica, mostró un aumento entre los valores de $K = 1$ hasta $K = 6$ (Figura 1A). A partir de este valor de K , la representación del Ln de la probabilidad, alcanza una forma asintótica, no mejorando los valores de verosimilitud al aumentar K hasta 10, e incluso descendiendo ligeramente a partir de $K = 9$. Los resultados para el caso del programa ADMIXTURE son plenamente coincidentes con los anteriormente descritos. Este resultado muestra como un subconjunto de marcadores informativos distribuidos a lo largo del genoma puede ser plenamente informativo para los fines de clasificación racial en el ganado ovino.

En cuanto al momento de separación entre las razas, la Awassi, más alejada filogenéticamente del resto, es la primera que se separa cuando K toma el valor 2 (Figura 1B). Cuando aumentamos el valor de K , observamos que la raza Churra es la primera de las españolas en mostrar una diferenciación en subpoblaciones con respecto al resto, mostrando una clara estructura intrarracial. Este hecho nos indica que la estructura racial y familiar ha de ser tenida en cuenta en los análisis de asociación para buscar genes de importancia económica en esta raza ovina, en la que se basan la mayor parte de los estudios desarrollados por nuestro grupo de investigación. Además, la variabilidad dentro de esta raza es superior a la existente entre las otras razas ibéricas; este hecho puede ser debido al mayor tamaño muestral de la Churra ($n = 100$) respecto al resto. En el caso del resto de poblaciones, los resultados obtenidos muestran una elevada semejanza entre las tres de las cuatro razas españolas estudiadas, Castellana, Ojalada y Rasa Aragonesa, con una clara homogeneidad entre ellas, a pesar de su pertenencia a distintos troncos filogenéticos. Este estudio representa una primera aproximación, a través del uso de SNPs, para el estudio de la estructura poblacional en el ganado ovino de nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, D. H., Novembre, J. & Lange, K. 2009. Genome Research 19:1655–1664.
- Becker, D., Tetens, J., Brunner, A., Bürstel, D., Ganter, M., Kijas, J., International Sheep Genomics Consortium & Drögemüller C. 2010. PLoS One. 5:e8689.
- Decker, J. E., Vasco, D. A., McKay, S. D., Rolf, M. M., Taxis, T. M., Chapple, R. H., Gregg, S. J., Kim, J. W., Schnabel, R. D. & Taylor, J. F. 2011. Plant Animal Genome XVII. P563.
- Hayes, B. J., Bowman, P. J., Chamberlain, A. J. & Goddard, M. E. 2009. J. Dairy Sci. 92:433-443.
- Price, A. L., Zaitlen, N. A. Reich, D. & Patterson, N. 2010. Nat. Rev. Genet. 11:459-463.

Pritchard, J. K., Stephens, M. & Donnelly, P. 2000. *Genetics* 155:945-959. • Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I., Daly, M. J. & Sham, P. C. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81:559-575. • Raymond, M. & Rousset, F., 1995. *J. Heredity* 86:248-249. • Rosenberg, N. A. 2004. *Mol. Ecol. Notes* 4:137-138. • Snelling, W. M., Allan, M. F., Keele, J. W., Kuehn, L. A., McDanel, T., Smith, T. P., Sonstegard, T. S., Thallman, R. M. & Bennett, G. L. 2010. *J. Anim. Sci.* 88:837-848.

Agradecimientos:

Este trabajo forma parte del proyecto AGL2009-07000 financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación. EGG es becaria FPU (Ministerio de Educación). BGG es investigadora contratada dentro del programa Juan de la Cierva (Ministerio de Ciencia e Innovación).

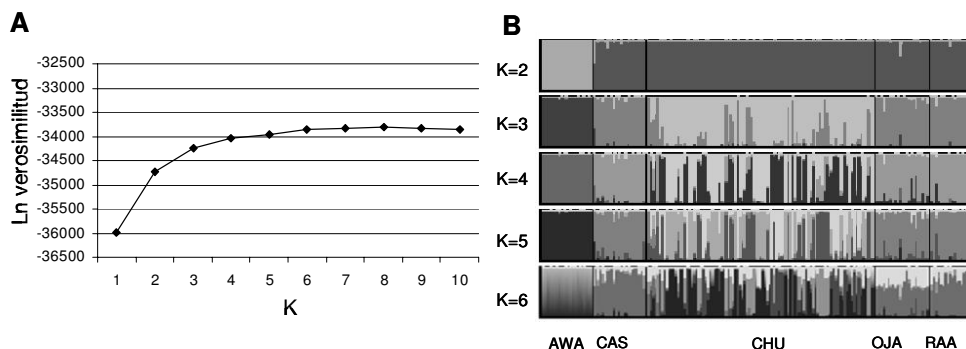


Figura 1. A) Representación gráfica de los valores del Ln de la verosimilitud, estimados con el software STRUCTURE v.2.3 para valores de K entre 1 y 10. B) Representación de la estructura poblacional obtenida para las cinco razas ovinas analizadas.

GENETIC STRUCTURE OF FOUR SPANISH SHEEP BREEDS USING A SNP-CHIP

ABSTRACT: Modern genomic tools allow genome-wide association studies (GWAS) to find genes underlying economically important traits in animals. In human, these studies have found many associations that cannot be always replicated. One of the reasons for this is the presence of population stratification in groups considered to be homogeneous. The objective of this work was to study the genetic structure of four Spanish sheep breeds (Castellana, Churra, Ojalada and Rasa Aragonesa) included in the *Sheep HapMap*. We selected 154 SNPs from the *Ovine SNP50BeadChip*, using PLINK options. Five independent analyses were made with STRUCTURE software to calculate the most likely number of clusters. The closest breeds were Ojalada and Rasa Aragonesa; Awassi was the most different when compared with any of the Spanish breeds. Population structure analysis revealed K=6 to be the most likely number of clusters. According to these results, Awassi was the most different breed (K=2), whereas among the Spanish populations, Churra was the only one clustering separately from the rest (K=3). Moreover, there were more differences within this breed than among the others (K=6). This study represents a first approach to assess/study population structure in Spanish sheep breeds and understand how these populations will behave in future GWAS.

Keywords: population structure, Spanish sheep, SNP-chip

ANÁLISIS DE LA DIVERSIDAD MITOCONDRIAL DE ALPACAS EN NUEVE ZONAS DEL SUR DE PERÚ

Melo, C.¹, Manunza, A.¹, Melo, M.², Olivera, L.² y Amills, M.¹

¹Centre de Recerca en Agrigenòmica, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, 0051 Puno, Perú. E-mail: Carola.Melo@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La alpaca (*Vicugna pacos*) es uno de los animales domésticos más importantes de la región de los Andes. La mayor población mundial se encuentra en Perú (80%), siendo el departamento de Puno la zona de mayor concentración de alpacas del país (www.inia.gob.pe). La fina calidad de su fibra, su carácter sociable y su inteligencia hacen de la alpaca un importante recurso ganadero y un excelente animal de compañía. A partir del s.XVI, con la introducción de ganado ibérico asociada a la colonización española, la llama y la alpaca fueron diezmadas hasta el extremo de eliminar, en menos de un siglo, el 90% del censo existente. Las poblaciones supervivientes fueron desplazadas a grandes altitudes, adaptándose a una ecología agreste y en la cual no prosperaban animales de origen europeo (Novoa, 1984). La hibridación entre camélidos sudamericanos probablemente ocurrió con mayor frecuencia durante y después de la colonización española. Sumando a ésto la drástica reducción de las poblaciones y la consecuente pérdida en la calidad de la fibra, no sería aventurado presumir una importante pérdida de la pureza genética de esta especie (Kadwell et al., 2001). Una de las principales líneas de acción en los programas de conservación de alpacas consiste en caracterizar la variabilidad genética de las poblaciones existentes mediante el empleo de marcadores moleculares. En este trabajo hemos analizado la diversidad mitocondrial de alpacas Huacayo y Suri distribuidas en nueve zonas ganaderas del sur peruano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se extrajo DNA de 44 muestras de fibra de alpacas representativas de los tipos Huacayo (N = 38) y Suri (N = 6). Las regiones e individuos muestreados fueron escogidos de acuerdo al censo poblacional y al estándar fenotípico, respectivamente. Se diseñaron los cebadores a partir de la secuencia mitocondrial de alpaca publicada en GenBank (NC_002504). Los productos de PCR fueron secuenciados con el *BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit* (Applied Biosystems) en un secuenciador automático ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems). Las secuencias fueron analizadas con el programa *Sequencing Analysis v.5.1.1* (Applied Biosystems) y alineadas con el programa Multalin (Corpet, 1998). Se utilizó el programa *DnaSP v.4.5* (Rozas et al., 2003) para calcular los valores de diversidad nucleotídica (π) y haplotípica (Hd). El programa MEGA5 (Tamura et al., 2011) fue empleado para construir un árbol filogenético obtenido con el método de máxima verosimilitud usando el modelo Hasegawa-Kishino-Yano (Figura 2), en el que se incluyeron las secuencias de alpaca obtenidas en el presente trabajo, así como secuencias de guanaco (*Lama guanicoe*) y las dos variedades de vicuña existentes (*Vicugna vicugna mensalis* y *Vicugna vicugna vicugna*). Para determinar la robustez de la topología del árbol se utilizó un test de *bootstrap* con 1000 permutaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fueron amplificadas la región control (D-loop, 1484 pb) y el gen citocromo B (*MT-CYB*, 1355 pb) del genoma mitocondrial de la alpaca. Al secuenciar la región D-loop se identificaron 20 haplotipos distintos, observándose una elevada diversidad nucleotídica ($\pi = 0.0296$) y haplotípica (Hd= 0.944). En cuanto al gen *MT-CYB*, se evidenció la existencia de 16 haplotipos, con una diversidad haplotípica de 0.893 y una diversidad nucleotídica de 0.026. Los resultados obtenidos son similares a los descritos en otras especies de camélidos analizadas mediante el uso de marcadores microsatélites (Wheeler et al., 2001; Marín et al., 2007). Nuestros resultados indican que existe un alto grado de variabilidad genética en las nueve zonas ganaderas estudiadas, pese a la gran reducción poblacional sufrida durante el proceso de colonización español. A pesar de haber estudiado muestras de individuos con un elevado estándar fenotípico, se observó la existencia de dos haplotipos mitocondriales correspondientes a vicuña y guanaco. En principio, la vicuña y la alpaca

están estrechamente emparentadas, tal como ha demostrado el análisis de DNA mitocondrial y microsátélites realizado por Kadwell et al. (2001). Por ello, resulta esperable el agrupamiento de alelos de ambas especies. Por el contrario, la presencia de variantes mitocondriales que agrupan con las de guanaco sólo podría entenderse como una consecuencia de la fuerte hibridación que tuvo lugar entre alpacas y llamas (*Lama glama*), siendo éstas últimas las portadoras de alelos mitocondriales de guanaco. Un objetivo de futuro consistiría en caracterizar genéticamente cada una de las subpoblaciones de alpaca indicadas en la Tabla 1 y Figura 1, con la finalidad de inferir la estructura poblacional y la historia demográfica de esta especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Kadwell, M., Fernández, M., Stanley, H., Baldi, R., Wheeler, J., Rosadio, R. & Bruford, M. 2001. Proc. Biol. Sci. 268: 2575-2584.
- Marin, J., Casey, C., Kadwell, M., Yaya, K., Hoces, D., Olazabal, J., Rosadio, R., Rodríguez, J., Spotorno, A., Bruford, M., & Wheeler, J. 2007. Heredity 99 (1): 70-80.
- Novoa, C. & Wheeler, J. 1984. In: Evolution of Domesticated Animals, I. L.Mason, Ed., Longman, London, pp.116-128.
- Rozas, J., Sánchez-Delbarrio, J., Messeguer, X. & Rozas, R. 2003. Bioinformatics 19 (18): 2496-2497.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. 2011. MEGA5. Mol. Biol. Evol. (submitted).
- Wheeler, J., Fernández, M., Rosadio, R., Hoces, D., Kadwell, M. & Bruford, M. 2001. RIVEP 1: 170-183.

Agradecimientos: Este trabajo se realizó gracias a la colaboración de alpaqueros Peruanos quienes han contribuido con las muestras para este estudio.

Tabla 1. Distribución geográfica de las muestras de alpaca analizadas.

Región analizada	MT-CYB (N)	D-loop (N)
Nuñoa - Puno	5	6
Azángaro - Puno	4	4
Lampa – Puno	3	4
Santa Lucía – Puno	5	6
Ocuviri – Puno	3	3
Macusani - Puno	6	7
Caylloma -Arequipa	5	5
Cayllali -Arequipa	5	4
Layo - Cusco	4	5
TOTAL	40	44

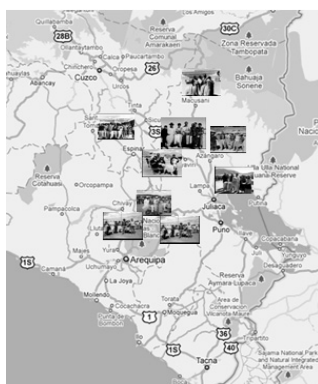


Figura 1. Localización de las zonas muestreadas en Perú

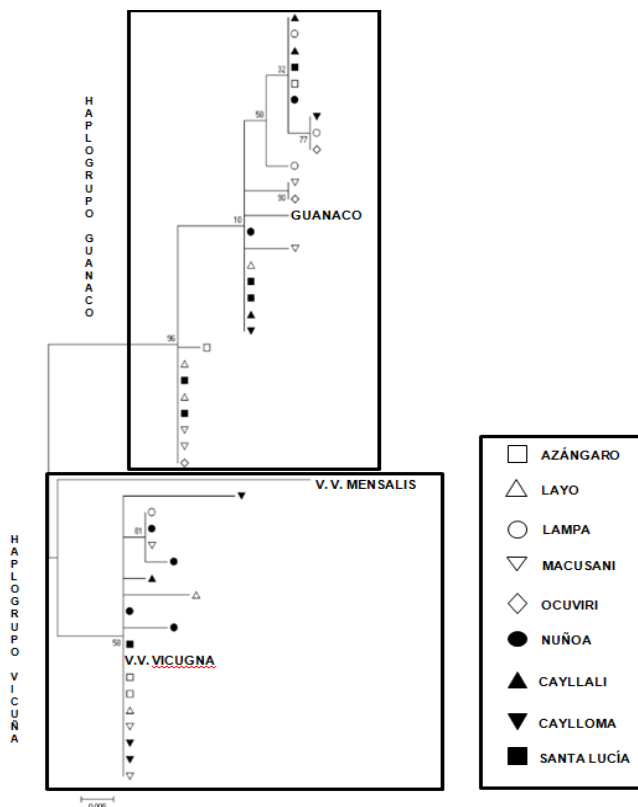


Figura 2. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de las secuencias mitocondriales D-loop correspondientes a la alpaca, el guanaco y los dos tipos de vicuña existentes.

ANALYSIS OF THE MITOCHONDRIAL DIVERSITY OF ALPACAS IN NINE FARMING AREAS OF THE SOUTHERN REGION OF PERU

ABSTRACT: In this work, we have characterized the variability of the D-loop region and the cytochrome B (*MT-CYB*) mitochondrial genes in alpacas (N = 44) distributed in nine farming areas of the southern region of Peru. Sequencing of the D-loop region revealed the existence of 20 haplotypes. Haplotype (Hd) and nucleotide (π) diversities reached values of 0.944 and 0.0296, respectively. Moreover, analysis of the *MT-CYB* region evidenced the segregation of 16 haplotypes (Hd = 0.893, π = 0.026). This result indicates that alpaca has retained a considerable level of genetic variation in spite of past demographic bottlenecks. Maximum likelihood phylogenetic analysis of D-loop and *MT-CYB* sequences allowed us to identify two main alpaca mitochondrial lineages related with either vicuña or guanaco. This result suggests an extensive hybridization between alpacas and llamas. A next goal would be to identify purebred alpacas as a strategy to improve the quality of fiber traits.

Keywords: Alpaca, D-loop, cytochrome B, mitochondrial diversity.

CARACTERIZACIÓN DE LA RAZA VACUNA BALADI DEL ALTO EGIPTO MEDIANTE MICROSATÉLITES

Molina-Flores, B.^{1,2}, Landi, V.², Martínez, A.², Delgado, J.V.², Galal, S.³ y Abdelaziz, A.³

¹División de Producción y Sanidad Animal, FAO, Roma, Italia

Viale delle Terme di Caracalla. 00153 baldomero.molina-flores@fao.org

²Departamento de Genética, Universidad de Córdoba, España

³Departamento de Genética, Universidad de Ain Shans, El Cairo, Egipto

⁴Proyecto hispano-egipcio para el desarrollo de la inseminación artificial en el vacuno del Alto Egipto, El Cairo, Egipto

INTRODUCCIÓN

Geográficamente el Alto Egipto, o *El-Saïd* (الصعيد) en árabe dialectal egipcio, corresponde a la región del Valle del Nilo y está constituido por siete departamentos o gobernaciones: Beni-Suef, El Minia, Asiu, Sohag, Quena, Luxor y Asuán (MAEC, 2004). En esta región la raza vacuna autóctona se conoce popularmente como Baladi (بلدي), literalmente “del país”, pero en algunos casos también se la denomina Saïdi (صعيدى), habiendo algunos que la distinguen como una raza distinta (comunicación personal, 2009). Aunque no existen datos precisos sobre el censo real de estas razas, algunas fuentes estiman que existen una población de 7000 machos - 320000 hembras de raza Baladi y 15000 machos - 300000 hembras de raza Saïdi, ambas en detrimento (MALR, 1992). Tampoco se conoce con certeza cuál es la distribución real de estas razas. Según la bibliografía, la raza Baladi se localiza en la región del Bajo Egipto o El-Behira (البحيرى), concretamente en las zonas del norte y suroeste del Delta del Nilo, donde también se la suele designar con otros nombres como Menufi, Beheri y/o Beheiri. Por el contrario la raza Saïdi es originaria de las zonas del centro y sur del Alto Egipto. Algunas fuentes consideran ambas razas como una variedad de lo que se denominaría como raza Egipcia o Masri (مصرى), y en el caso particular de la raza Saïdi con cierta influencia cebuina (DAD-IS, 2011). Por el contrario otros autores consideran que la raza Baladi también posee alguna ascendencia del cebú, aunque no mencionan la existencia de una raza/variedad Egipcia o Saïdi (Graml et al., 1986). Otros entienden que la raza Egipcia no es más que una “composición comercial” desarrollada a partir de las razas autóctonas de la región con proporciones variables de genética exótica (DAGRIS, 2009). Esta última afirmación tiene sentido si consideramos las recientes evidencias de genética molecular y arqueológicas que sugieren que el vacuno braquicero sin joroba (*Bos taurus*) del norte de África descende evolutivamente del *B. taurus* de África del oeste y central, además de la influencia genética secundaria del *B. taurus* introducido desde Europa y Oriente Próximo (Hanotte et al., 2002; MacDonald, 2000). La distribución actual de las razas vacunas braquiceras sin joroba en el norte de África se extiende desde Egipto, a través de Libia, Túnez y Argelia, hasta Marruecos. Existen dos subgrupos de estas razas: el Egipcio y la Parda del Atlas. Así pues, el subgrupo racial Egipcio incluye razas como la Baladi y la Saïdi, entre otras (Maule, 1990). Debido a la extensión geográfica de la zona objetivo del estudio, especulamos que podría existir una gran diversidad genética en la región donde se llevó a cabo el muestreo, ya que no existe una estrategia de selección ni ningún movimiento comercial de sementales. De ahí que el objetivo del presente trabajo fue investigar la biodiversidad genética de la raza Baladi en la región del Alto Egipto y la estructuración de su población mediante el uso de marcadores microsatélites.

MATERIAL Y MÉTODOS

La selección de los animales muestreados se llevó a cabo en las siete gobernaciones del Alto Egipto (Beni-Suef, El Minia, Asiu, Sohag, Quena, Luxor y Asuán). Se contó con la colaboración de los oficiales veterinarios de las Unidades Clínicas Veterinarias adscritas al “Proyecto hispano-egipcio para el desarrollo de la inseminación artificial en el vacuno del Alto Egipto”, a los cuales se les solicitó que seleccionaran, según su criterio personal, animales de raza Baladi de más de dos años de edad. El número de animales muestreados en cada una de las gobernaciones se estableció de acuerdo al censo bovino de éstas. Con la ayuda de unas pinzas se tomó una muestra de pelo, asegurándose de que estas contuvieran el bulbo piloso, las cuales fueron almacenadas en sobres de papel debidamente identificados. Se recolectaron un total de 220 muestras que fueron analizadas posteriormente en el laboratorio del Departamento de Genética de la Universidad de

Córdoba (España) con 28 marcadores microsatélites recomendados por FAO/ISAG (2004), según el protocolo utilizado en Delgado et al. (in press). Otras muestra de razas internacionales (Frisona Holstein, Parda Alpina, Hereford y Cebúes Sudamericanos), procedentes de la base de datos del proyecto internacional de Biodiversidad Bovina Ibero-Americana (Biobovis, 2011), fueron incluidas para ser comparadas con las muestras de raza Baladi. Los diferentes alelos han sido visualizados mediante electroforesis en un secuenciador automático ABI 377XL (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). El análisis de los fragmentos y la tipificación alélica se realizó mediante los programas informáticos Genescan Analysis® 3.1.2 y Genotyper® 2.5.2 respectivamente. Se calcularon las frecuencias alélicas, el número medio de alelos, y las Heterocigosis Esperada y Observada mediante el programa Microsatellite Toolkit® (Park, 2001). Los valores de FIS con un intervalo de confianza del 95% y el análisis factorial de correspondencia se han calculado con el programa informático Genetix® v. 4.02 (Belkhir et al., 2003) y la prueba de equilibrio Hardy-Weinberg (HW) mediante el programa Genepop® v. 3.1c (Raymond y Rousset, 1995), que aplica el test exacto de Fisher usando el método en cadena de Monte Carlo Markov (Guo y Thompson 1992). Se diseñó un árbol de distancias filogenéticas con el programa Treeview® (Page, 1996) sobre una matriz de distancias calculada con el software Population® (Langella, 1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros estadísticos indicaron un alto nivel de biodiversidad ($H_o: 0,70 \pm 0,02$; $H_e: 0,75 \pm 0,03$), siendo el número medio de alelos de 6,25. La población parece estar en bastante desequilibrio HW, probablemente debido a la gran extensión geográfica del origen de las muestras ($FIS = 0.08277$, $FIT = 0.09887$, $FST = 0.01755$). El análisis factorial de correspondencia (AFC) muestra un modelo genético homogéneo, los grupos de poblaciones de Beni-Suef y Asiut son los más heterogéneos. A través del AFC, en el que se incluyeron razas vacunas internacionales y cebúes sudamericanos, se observaron algunas influencias del *Bos indicus*, probablemente debido a la introgresión de este tipo de animales procedentes de otras partes de África y utilizado por su resistencia en climas cálidos. En el dendrograma de la raza Baladi se puede observar como ésta se sitúa en una posición intermedia entre los dos grupos de bovinos de referencia (*Bos taurus* y *Bos indicus*), lo cuál podría indicar un posible origen común de esta raza, fruto de una mezcla de genes adaptados al medio ambiente subtropical del Valle del Nilo. En el análisis AFC los dos ejes muestran un porcentaje de varianza molecular muy similar (4,61 y 3,39). Igualmente se observa una posición intermedia de la raza Baladi, si bien con una mayor fracción de individuos posicionados en el espacio correspondiente a Cebú, no obstante hay que tener en cuenta que las razas cebuínas utilizadas en el análisis son tipos seleccionados en ambientes tropicales americanos, lo que probablemente magnifica las diferencias genéticas. En conclusión, la raza Baladi aparece como una entidad racial homogénea y conserva una elevada variabilidad genética debido a la gran extensión geográfica que ocupa. Posteriores estudios filogenéticos se llevarán a cabo para una mayor comprensión de las relaciones genéticas con otras razas africanas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Belkhir et al. 2003. Montpellier, France. • Biobovis. 2011. <http://www.biobovis.jimdo.com> • Blench, R.M. & Macdonald, K.C. 2000. University College London Press. • DAD-IS. 2011. <http://dad.fao.org/en/home.htm>. • DAGRIS. 2009. <http://dagrils.ilri.cgiar.org> • Delgado et al. Anim. Genet. - in Press. • FAO/ISAG. 2004. Proc. 29th Int. Conf. on Animal Genetics, Tokyo, Japan. • Guo, S.W. & Thompson, E.A. 1992. Biometrics 48: 361-72 • Hanotte et al. 2002. Science 296: 336-339 • Langella, O. 1999. <http://www.bioinformatics.org> • MAEC. 2004. <http://www.maec.es> • MALR. 1992. FAO Breed Survey Central Administration for Animal Production, Egypt. • Maule, J.P. 1990. University of Edinburgh, Great Britain. • Nei, M. 1973. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.: 3321-3. • Page, R.D.M. 1996. The Biosciences 12: 357-8. • Park, S.D.E. 2001. University of Dublin, Ireland. • Raymond, M. & Rousset, F. 1995. J. Hered. 86: 248-9.

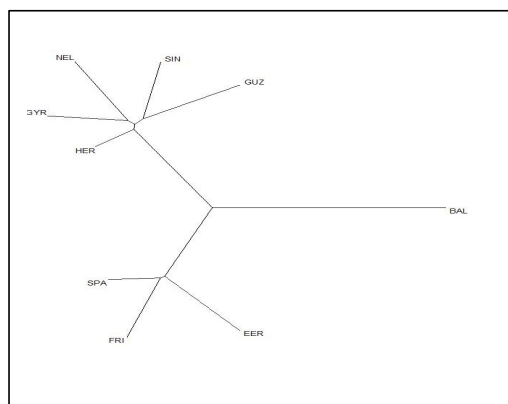


Figura 1. Dendrograma de las distancia filogenéticas (Nei, 1973)

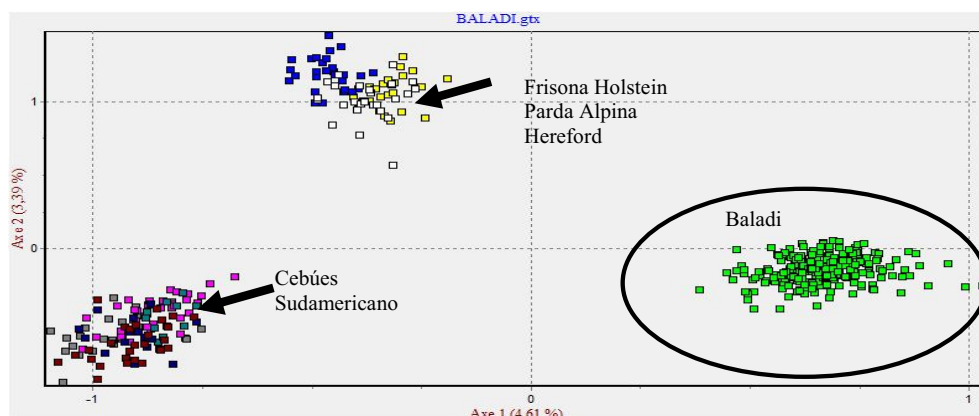


Figura 2. Análisis Factorial de Correspondencia (AFC)

CHARACTERIZATION OF THE UPPER EGYPT BALADI CATTLE ASSESTED BY MICROSATELLITES

ABSTRACT: The Baladi cattle breed is traditionally reared in the Upper Egypt. It is defined as Humpless Shorthorn cattle and appears to be similar in evolutionary descent with the Humpless Shorthorn cattle of western and central Africa. The genetics biodiversity of this breed and its population structure by microsatellites markers (28 STR loci) was investigated. The statistical parameters indicated a high level of biodiversity, being the average number of alleles of 6,25. The population appears to be quite in HW disequilibrium, probably due to extensive geographical distribution of samples. The AFC analysis showed a homogenous genetic pattern. The Bayesian assignment analyses, performed including international cattle breeds, confirmed some influences from *Bos indicus*.

Keywords: Egypt, baladi, cattle, microsatellites.

CONSIDERACIONES SOBRE EL NIVEL PRODUCTIVO DEL GANADO VACUNO DE CARNE EN ESPAÑA

Jiménez-Montero, J.A.¹, González-Recio, O.² y Alenda, R.¹

¹Departamento de Producción Animal. ETSI Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. Ciudad Universitaria s/n. 28040 Madrid. ²Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ctra. La Coruña km 7,5. 28040 Madrid. Correo electrónico: joseantonio.jimenez.montero@upm.es

INTRODUCCIÓN

El ganado vacuno de carne en España ha sido seleccionado durante las últimas décadas a través de las asociaciones de ganaderos en base a los libros genealógicos, los prototipos raciales y como principales criterios de selección crecimiento y habilidades maternas (Serradilla et al., 2008). La necesidad de mejorar la conformación carnicera y los caracteres de crecimiento de las razas locales provocó la introducción de razas foráneas seleccionadas para dichos caracteres. Estas razas foráneas se utilizaron en el cruce con el ganado autóctono y posteriormente para la cría de esas mismas razas en pureza o en cruzamientos. El interés por la mejora surge en gran medida de la competencia creada en los concursos morfológicos, ya que el prestigio obtenido favorece las ventas de ganado de reposición con mayor margen comercial. Los animales más mediáticos suelen ser los machos adultos, siendo un aspecto clave en su éxito el tamaño y el peso vivo. Ante esta situación y con el posible cambio de la política agraria para los próximos años, se debe plantear la adecuación de los programas de selección a la mejora de la rentabilidad del sector (Alenda y Pérez-Cabal, 2010). El objetivo de este trabajo es evaluar la información pública disponible para determinar la adecuación de la base genética animal del vacuno de carne a las demandas del mercado y reflexionar sobre las mejoras que podrían realizarse.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos sobre censos, fertilidad, sacrificios y pesos empleados en este estudio proceden de las encuestas de ganado bovino y mataderos de 2009, el estudio del sector español de vacas nodrizas, la caracterización del sector vacuno de carne 2009 y 2010 y del informe anual 2009 de la red nacional de granjas típicas (www.mapa.es). Los datos sobre bajas se han obtenido de la memoria del informe anual 2009 (www.agroseguro.es). Los precios de los productos de la mesa nacional de precios de ganado vacuno de carne (www.mercadodeganadodetalavera.com), las lonjas de Silleda (www.semanaverde.es), Extremadura (www.lonjaextremadura.org), y Salamanca (www.dipsanet.es). Los datos sobre pesos y transacciones de ganado de vida proceden de la memoria de certámenes ganaderos de FEAGAS (www.feagas.es), y de la información de distintas asociaciones de ganado selecto (www.razaavilena.es; www.razalimusin.org; www.acruga.com).

Los productos obtenidos por las explotaciones se describen como:

- Ternero pastero: Criado con su madre y vendido a los 6-7 meses de edad para cebo.
- Ternero para sacrificio: Sacrificado antes de los 8 meses de edad.
- Bovino joven: Sacrificado entre 8 y 12 meses de edad.
- Toros y Novillas sacrificio: Machos y hembras no paridas sacrificados mayores de año.
- Bueyes y Vacas sacrificio: Machos castrados y hembras paridas sacrificadas.
- Novillas de reposición: Hembras vendidas a otras explotaciones como reproductoras.
- Sementales: Machos vendidos a otras explotaciones como reproductores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El censo de vacuno en España se sitúa en torno a los 6 millones de cabezas (Leche y Carne), con un total de 1,9 millones de reproductoras cárnicas. El 53% están identificadas como conjunto mestizo, declarándose el resto como pertenecientes a algún prototipo racial, de aquí la mitad se encuentran inscritas en los libros genealógicos (Fernández, 2010) y de estas un 30-35% en control de rendimientos (Díaz y Quintanilla, 2002). Los datos productivos medios por vaca se resumen en la tabla 1. Se producen unos 0.65 terneros por vaca y año; en cuanto a la longevidad productiva, se observa como el número de terneros en función de la edad de la vaca apenas aumenta a partir de los once años (Figura 1); este dato junto a la edad al primer parto registrado cercana a los tres años y medio y un intervalo de 514 días limitan a 5.09 el número de terneros producidos por vaca a lo largo de su vida.

Tabla 1. Resultados productivos medios.

Parámetro	Valor	Unidad
Edad al primer parto	3.49	años
Intervalo entre partos	514	días
Fertilidad	70.96	%
Edad media de baja	9.25	años
Producción vitalicia	5.09	terneros/vaca
Mortalidad al parto	5.13	%
Mortalidad en lactación	1.05	%
Bajas (recreía y vacas)	3.58	%

Elaboración propia. Fuentes:

(www.mapa.es; www.agroseguro.org)

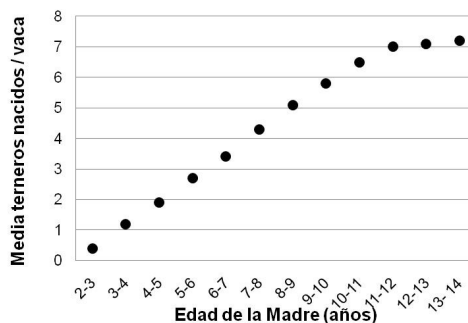


Figura 1. Valores medios del número de terneros registrados por vaca en función de la edad de la madre. Fuente (www.mapa.es)

La diversidad de productos obtenidos de estas reproductoras y de los terneros importados queda resumida en la Tabla 2. Se observa como los precios de todas las categorías comerciales (animales vivos y canales) se ven afectados por la conformación.

Tabla 2. Pesos y precios promedio (entre sexos) por Kilo de peso vivo¹ o por Kilo de canal² de las producciones de vacuno y ajustes en función de la conformación de los animales o las canales

Producto	% de cabezas sacrificadas en España	Peso Canal (Kg)	Precio Base (€)	Suplemento Conformación	Penalización Conformación
Ternero Pasteros (6-7meses)		240*	2.05 ¹	6.00%	-19.55%
Ternero(<8 meses)	5.99%	167	2.37 ¹	2.11%	-2.95%
Bovino Joven(8-12 meses)	23.93%	231	3.61 ²	5.81%	-4.83%
Toros y novillas(>12 meses)	55.40%	275	3.55 ²	5.34%	-7.49%
Bueyes y Vacas	14.68%	285 ¹	2.28 ^{2†}	17.54%	-14.47%

¹Kg de Peso vivo (pesos de pasteros ligeros (4 meses) y mamones (1-4 semanas) no incluidos.

²Peso promedio (animales cebados, deshecho y sacrificio de urgencia) [†]Precio de animales cebados (Precio vaca deshecho 1.30 €/Kilo canal). Fuentes (www.mapa.es; www.semanaverde.es; www.dipsanet.es; www.lonjaextremadura.org; www.mercadodeganadodetalavera.com).

Las cotizaciones de los pasteros se fijan generalmente sobre un precio base de 200 kilos (Promedio del lote), siendo poco revalorizados los animales con pesos superiores. Terneros para sacrificio es una producción bastante localizada en la zona de Galicia, el factor limitante más importante es la edad al sacrificio (Domingo et al., 2010). En cuanto a las categorías de Bovinos jóvenes la limitación también es la edad. Las categorías de Novillas y Toros no presentan grandes diferencias con la anterior ya que el mercado español tiende a la producción de canales no excesivamente grandes, el peso medio de las canales de machos de más de 12 meses se sitúa en 295 Kilos (www.mapa.es), en este nivel de pesos, un correcto grado de engrasamiento de los machos es uno de los factores limitantes (Alberti et al., 2010). Existe variación por provincias, en siete (20% de 775,000 toros sacrificados totales) el peso medio es superior a 320 kilos. Los precios por kilo de canal suelen estar fijados por categorías de pesos con reducciones de precio para rangos superiores (www.mercadodeganadodetalavera.com). Los animales adultos cebados conforman el segmento más claramente orientado a la producción de carne de calidad, el suplemento por conformación en este caso está más relacionado con el nivel de condición corporal y engrasamiento de los animales que con el desarrollo muscular. Los animales de mayor valoración económica suelen venderse en las ferias y mercados como reproductores. Estos sementales de razas especializadas alcanzan los 2400 Euros de media mientras que los machos de razas menos conformadas llegan a 2000 Euros de promedio (www.feagas.es);

por otras vías de comercialización, los precios suelen ser inferiores. Esta producción está limitada a un 2% del total de terneros machos nacidos al año. En cuando a las Novillas de reposición sus precios varían desde los 600-700 Euros de las recién destetadas y poco conformadas a los 2700 Euros de novillas importadas. En función de la edad, las hembras tienden a revalorizarse hasta el primer parto, a partir del cual pierden valor de forma lineal.

CONCLUSIONES

La productividad por vaca presenta valores inferiores a los óptimos, indicando una falta de adaptación de la base animal a los sistemas de producción, o viceversa. Siendo la fertilidad uno de los caracteres con mayor peso económico (Phocas et al., 1998; Fernández-Perea et al., 2004), debería ser uno de los objetivos de mejora prioritarios. Las 2.7 millones reproductoras (carne + leche), no son capaces de abastecer la necesidades de cebo (2 millones de cabezas) siendo necesaria la importación anual de entre 400.000 y 700.000 terneros para cebo además de un número importante de reproductores (www.mapa.es). La incorporación de datos procedentes de animales cruzados, incrementaría la eficiencia de los programas de mejora, actualmente se controlan pocos animales y se obvia la información de los cruzados que son la mayoría del censo de reproductores y crías.

La conformación es uno de los principales determinantes del precio de los productos sin embargo la calidad de la carne no está suficientemente retribuida para el productor, a pesar de existir un nicho de mercado, en parte ocupado por carnes importadas.

La diversidad de productos hace necesario el diseño de distintos índices de selección que consideren todos los factores productivos, un ejemplo sería el programa irlandés (Hickey et al., 2005). Una característica general de la mayoría de las producciones españolas, son las limitaciones de edad y/o de peso de los animales. Ante esta realidad, seleccionar animales de mayor tamaño adulto implica incrementar las necesidades de mantenimiento (Fernández-Perea y Alenda., 2005), retrasar la edad de madurez y sacrificar animales antes del momento óptimo, lo que influye negativamente en los beneficios de la explotación (Cartwright, 1970). Es necesario optimizar las curvas de crecimiento de los animales, tener en cuenta los recursos disponibles y como se valora cada tipo de producto a la hora de definir los objetivos de selección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí, P., Casasús, I., Ripoll, G., Panea, B. & Blanco, M. 2010. II Congreso Nacional de Zootécnia. Lugo.
- Alenda, R. & Pérez-Cabal, M.A. 2010. XV Reunión Anual Mejora Genética Animal. Vigo.
- Cartwright, T.C. 1970. J. Anim. Sci. 30:706-711.
- Díaz, C. & Quintanilla, R. 2002. XI Reunión Anual Mejora Genética Animal. Pamplona.
- Domingo, G., Iglesias, A., Moreno, A. & Sanchez, L. 2010. II Congreso Nacional de Zootécnia. Lugo.
- Fernández, J.A. 2010. II Congreso Nacional de Zootécnia. Lugo.
- Fernández-Perea, M.T. & Alenda, R. 2004. Livest. Prod. Sci. 89: 223-233.
- Hickey, J.M., Amer, P.R., Cromie, A.R., Grogan, A., Calus, M.P.L., Wickham, B.W. & Veerkamp, R.F. 2005. Interbull Bulletin 33:109-112.
- Phocas, F., Bloch, C., Chapelle, P., Bécherel, F., Renand, G. & Ménessier, F. 1998. Livest. Prod. Sci. 57:49-65.
- Serradilla, J.M., (Coord.) 2008. XIV Reunión Anual Mejora Genética Animal. Sevilla.

BEEF CATTLE PRODUCTIVITY IN SPAIN BASED ON PUBLIC DATA BASES

ABSTRACT: With the aim to analyze productivity of beef cattle in Spain, annual records from government surveys, animal traceability data base, insurance company reports and records from breeders' societies have been joined. More than 50% of beef cattle in Spain are crossbred; their production should be considered in the genetic program. Lifetime productivity is estimated in 5.09 calves per cow and most of the beef carcasses have a final weight below 300 Kg. Conformation and precocity are traits related to the product price. Selection objectives should be focused in adapting cows to the farms conditions and growth curves should be modified with the objective of adjusting produced carcasses to the market demands.

Keywords: Productivity, Beef Cattle, Selection Objectives.

EFFECTO DE LA SELECCIÓN POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA SOBRE EL BIENESTAR DE LA CONEJA.

Argente, M.J.^{1*}, Garcia, M.L.¹, Muelas, R.¹, Birlanga, V.¹ y Blasco, A.²

¹Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra de Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela, Spain.

²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012. 46071 Valencia, Spain.
mj.argente@umh.es

INTRODUCCIÓN

Las proteínas de fase aguda (APP), entre las que se encuentra la proteína C reactiva (CRP), son proteínas plasmáticas que incrementan su concentración en respuesta a procesos inflamatorios o infecciosos independientemente del agente causal. Estudios recientes han mostrado que los cambios en el manejo de los animales o un traslado de los mismo puede provocar también un aumento de las APP en sangre, por ello han sido propuestas como biomarcadores útiles para medir el estado de salud y bienestar del animal (revisión de Rodríguez-Gómez et al., 2009). En un experimento de selección divergente por variabilidad ambiental del tamaño de camada en conejo, las hembras de la línea de baja variabilidad (L) mostraron por término medio un tamaño de camada mayor y más homogéneo, además, de un intervalo entre partos más constante que las hembras de la línea de alta variabilidad (H) (Argente et al., 2011). La hipótesis subyacente en este trabajo es que la respuesta a la selección por variabilidad ambiental del tamaño de camada puede estar relacionada con el estado de salud y bienestar de la hembra. El objetivo de este trabajo es medir los niveles plasmáticos de proteína C reactiva (CRP) en estas líneas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Las conejas utilizadas en este estudio pertenecen a la cuarta generación de un experimento de selección divergente por variabilidad ambiental del tamaño de camada. Dichas hembras fueron alojadas en la granja de la Universidad Miguel Hernández de Elche, con un ambiente controlado con fotoperiodo constante de 16 h de luz: 8 h de oscuridad. Las hembras iniciaron su vida reproductiva a las 18 semanas de vida. El manejo de los animales fue en bandas semanales con montas a los 12 días post-parto, por lo que la hembra puede estar gestante y lactante al mismo tiempo. Se extrajo una muestra de sangre a las hembras en la primera y segunda monta para medir el nivel de proteína C reactiva mediante enzimoimmunoanálisis (ELISA), con un kit comercial específico para CRP en conejo (Proteína C reactiva en conejo ELISA®, Helica Biosystems, Inc. USA). Se midieron las 27 mejores hembras de las líneas de alta (H) y baja (L) variabilidad.

Caracteres

Los caracteres analizados fueron la concentración de proteína C reactiva en la primera (CRP1) y segunda monta (CRP2), y la varianza fenotípica de la concentración de la proteína C reactiva dentro de hembra (V). Las varianzas fueron calculadas usando el estimador de mínimo riesgo cuadrático.

$$V = \frac{1}{n+1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Análisis estadístico

Los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. La variable CRP1 fue analizada con un modelo que incluyó los efectos de línea y estación. El modelo para la variable CRP2 incluyó además el estado de lactación (hembra lactante o no lactante). El modelo para la variable V sólo consideró el efecto de línea. Para los efectos se utilizaron priors planos acotados. La distribución de los caracteres se asumió normal, lo que es solamente aproximado en el caso de V. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron usando muestreo de Gibbs.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las medias para las variables CRP1, CRP2, y V en la línea de alta variabilidad. La CRP presenta un valor medio superior al encontrado en animales sanos de la misma edad (Sun et al., 2005; Li et al., 2009). En la misma tabla se presentan los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas.

Las hembras de la línea H muestran una concentración mayor de proteína C reactiva (P=100%) cuando son trasladadas a la nave de maternidad para iniciar su vida reproductiva (CPR1). Esta mayor concentración pone en evidencia que las hembras de la línea H se adaptan peor a los cambios y son más sensibles a los patógenos del nuevo ambiente. La diferencia entre líneas sigue siendo mayor en la línea H en la segunda monta (P=97%), lo que indicaría que, efectivamente, la línea H es más sensible a enfermedades, y que la mayor variabilidad del tamaño de camada que presenta esta línea es consecuencia de esta mayor sensibilidad. La variabilidad de la respuesta a proteína C reactiva (V) es mayor en la línea alta (P=98%), lo que probablemente tenga el mismo significado.

Es difícil calibrar hasta qué punto es importante una diferencia en concentración de CRP, por lo que se eligió el criterio heurístico de considerar relevante un valor que superara a un tercio de la desviación estándar del carácter. Este criterio se basa en que la relevancia de un carácter está relacionado con su variabilidad y no con su media –por ejemplo, pequeños aumentos en caracteres muy poco variables como el porcentaje de carne en la canal pueden ser muy relevantes-, y en que para la mayor parte de caracteres productivos – tamaño de camada, índice de conversión, producción de leche, etc.- los valores económicamente relevantes están en torno a un tercio de su desviación típica. En nuestro caso, el valor encontrado de proteína C reactiva fue relevante en ambos casos, pero la precisión de las estimaciones sólo nos permite afirmarlo en el primer caso (CPR1), en el que la probabilidad de superar a un valor relevante fue Pr=94%. En la segunda monta (CPR2) tuvo una probabilidad de relevancia fue sólo del 62%, por lo que harían falta más datos para sacar conclusiones firmes.

CONCLUSIÓN

La selección para reducir la variabilidad ambiental del tamaño de camada puede tener un efecto positivo sobre el estado de salud y bienestar de la hembra.

Agradecimientos: Este experimento ha sido financiado con el proyecto AGL2008-05514-C02-02 y la acción complementaria ACOMP09/2009/172.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., Garcia, M.L., Muelas, R., Santacreu, M.A. & Blasco, A. 2011. XIV Jornadas sobre Producción Animal.
- Li, S.N., Wang, X., Zeng, Q.T., Feng, Y.B., Cheng, X., Mao, X.B., Wang, T.H. & Deng, H.P. 2009. Heart and Vessels. Vol 4(6): 447-463.
- Rodríguez-Gómez, I.M., Barranco, I., Pallares, F.J., Rodríguez-Estévez, V., Gomez-Laguna, J. & Carrasco, L. 2009. Anales. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental: Vol 22: 125-134.
- Sun, H., Koike, T., Ichikawa, T., Hatakeyama, K., Shiomi, M., Zhang, B., Kitajima, S., Morimoto, M., Watanabe, T., Asada, Y., Chen, Y. E., & Fan, J. 2005. Am. J. Pathol. 167:1139-1148.

Tabla 1. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre la línea de alta (H) y de baja (L) variabilidad ambiental del tamaño de camada para la concentración de proteína C reactiva en la primera (CRP1) y segunda monta (CRP2), y la varianza fenotípica de la concentración de la proteína C reactiva dentro de hembra (V).

	Media	DS	D	HPD _{95%}	P(%)	R	Pr (%)
CRP1, µg/ml	18.89	9.44	7.62	3.03, 12.64	100	4	94
CRP2, µg/ml	13.56	12.84	4.84	-1.59, 10.11	97	4	62
V, (µg/ml) ²	46.99	65.39	32.82	6.71, 62.98	98	10	94

Media: media en la línea H. DS: desviación estándar. D: mediana posterior de la diferencia entre las líneas H y L. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0. R: diferencia de relevancia. Pr: probabilidad de relevancia (P(D>R) cuando D>0 y P(D<R) cuando D<0).

EFFECT OF SELECTION FOR ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN LITTER SIZE ON WELFARE IN RABBIT DOES

ABSTRACT: C-reactive protein (CRP) may be a useful marker of health and animal welfare. The aim of this study is to measure plasmatic levels of CRP in two lines of rabbits divergently selected for environmental variability in litter size. Females of the high line (H) for environmental variability in litter size showed higher concentration of CRP at beginning of their reproductive life (D = 7.62 µg/ml, P (D> 0) = 100% at the first mating, and D = 4.84 µg/ml, P (D> 0) = 97% at the second mating) than females of the low line (L). It seems that the line H is more sensitive to diseases, and its greater variability in litter size could be a consequence of its major sensibility to illness.

In conclusion, these results suggest that selection to reduce environmental variability in litter size may have a positive effect on health and animal welfare.

Keywords: Environmental variance, C reactive protein (CRP), rabbits, welfare

RESULTADOS DE LAS CUATRO PRIMERAS GENERACIONES DE SELECCIÓN DIVERGENTE POR VARIABILIDAD AMBIENTAL DEL TAMAÑO DE CAMADA EN CONEJO.

Argente, M.J.¹, Garcia, M.L.¹, Muelas, R.¹, Santacreu, M.A.² y Blasco, A.²

¹Departamento de Tecnología Agroalimentaria. Universidad Miguel Hernández de Elche, Ctra de Beniel Km 3.2, 03312 Orihuela, Spain.

²Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia, P.O. Box 22012. 46071 Valencia, Spain.
mj.argente@umh.es

INTRODUCCIÓN

La varianza ambiental del tamaño de camada podría estar bajo control genético (Sorensen y Waagepetersen, 2003, en cerdo; Gutiérrez et al., 2006, en ratón). La variabilidad del tamaño de camada puede depender del estado de salud de la hembra y de su susceptibilidad a enfermedades, que son caracteres que están controlados en parte por genes. La selección para reducir la variabilidad ambiental podría, por tanto, mejorar el bienestar animal (Argente et al., 2011), además de reducir el número de adopciones y de la mortalidad perinatal. Por otro lado, aumentaría la heredabilidad del tamaño de camada, y como consecuencia su respuesta a la selección. La selección por varianza del tamaño de camada supone una selección directa sobre la varianza ambiental de este carácter, puesto que los efectos genéticos y permanentes son comunes a todas las camadas; esto puede representar una ventaja notable sobre los programas que evalúan el valor genético de la varianza ambiental, dado la escasa robustez de estos modelos (Sorensen, 2010). El objetivo de este trabajo es estimar la respuesta a la selección en un experimento de selección divergente por varianza fenotípica del tamaño de camada en conejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Los animales de la generación base de este experimento proceden de una línea originalmente seleccionada por tamaño de camada. Todos los animales fueron alojados en la granja de la Universidad Miguel Hernández de Elche, con ambiente controlado con un fotoperiodo constante de 16 h de luz: 8 h de oscuridad. Las hembras fueron montadas a los 12 días post-parto, produciendo una media de cuatro partos. Se realizó una selección divergente sobre la variabilidad del tamaño de camada durante cuatro generaciones. El criterio de selección fue la varianza fenotípica del tamaño de camada dentro de hembra después de corregir el tamaño de camada por los efectos de año-estación y el estado de lactación (Ve). Cada línea tuvo 125 hembras y 25 machos por generación, aproximadamente. La presión de selección sobre hembras fue de un 30% en cada línea. Los machos fueron elegidos dentro de familias de padre para evitar el incremento de la consanguinidad.

Caracteres

Los caracteres analizados fueron el número total de gazapos nacidos (TC), la varianza ambiental (Ve), la varianza fenotípica del tamaño de camada dentro de hembra sin corregir por efectos de año-estación y estado de lactación (Vp), el intervalo entre partos (IP) y la varianza del intervalo entre partos dentro de hembra (V_{IP}). Todas las varianzas (Ve, Vp, V_{IP}) fueron calculadas usando el estimador de mínimo riesgo cuadrático (el número de partos n varía de 2 a 8).

$$V = \frac{1}{n+1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Análisis estadísticos

Todos los análisis se realizaron utilizando metodología bayesiana. Las variables Ve, Vp, IP y V_{IP} fueron analizadas con un modelo que sólo tenía como efecto la línea-generación (con 9 niveles: generación base, y línea de alta (H) y de baja variabilidad (L) de cada generación). El modelo usado para analizar el TC incluyó los efectos de línea-generación, año-estación, estado de lactación y el efecto aleatorio de hembra. Se utilizaron priors planos acotados

para todos los efectos sistemáticos, y el efecto de hembra se distribuyó de forma normal con media 0 y varianza $1\sigma_d^2$. Los residuos se distribuyeron normalmente con media 0 y varianza $1\sigma_e^2$. Los priors de las varianzas fueron también planos acotados. Las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas se estimaron por muestreo de Gibbs. La convergencia fue testada usando el criterio Z de Geweke y los errores de Monte Carlo fueron obtenidos por series temporales (Sorensen y Gianola, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se muestran las medias en la población base y los parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas alta (H) y baja (L), en la cuatro primeras generaciones de selección. El test de Geweke no detectó falta de convergencia y el error de Monte Carlo fue pequeño en todas las variables.

Ha habido una respuesta a la selección en la primera generación, puesto que las líneas H y L mostraron un diferencia de 0.70, con una probabilidad de ser positiva del 97% (a pesar de que el cero esté siempre incluido en el HPD95%, lo que es irrelevante para detectar si hay diferencias). En las siguientes generaciones no hubo respuesta aparentemente, pero la diferencia obtenida en la primera generación se mantuvo. El fenómeno es inesperado, pero no inusual, se pueden poner varios ejemplos de selección por caracteres reproductivos en los que sucede lo mismo. Las explicaciones posibles son muchas, desde existencia de genes mayores, interacciones, efecto Bulmer, asimetrías en la respuesta, al simple error de muestreo. Es pronto aún para interpretaciones, cuando se obtengan más generaciones de selección y se descongele una población control vitrificada al inicio del experimento, se podrán avanzar hipótesis de manera más concluyente.

Se corrigió la varianza fenotípica para formar el criterio de selección (V_e), debido a que ciertas conejas podrían tener mayores camadas en una estación o estado de lactación y menores en otras, lo que incrementaría su varianza sólo por motivos ambientales. Parece ser sin embargo que la respuesta correlacionada sin corregir (V_p) es muy similar.

Parece haber respuesta correlacionada en tamaño de camada, de forma que la línea de mayor variabilidad tiene menor tamaño de camada, algo que parece contraintuitivo pero que está de acuerdo con la correlación negativa entre ambos caracteres encontrada en porcino por Sorensen y Waagepetersen (2003), aunque estas correlaciones están siendo discutidas recientemente como artefactos del modelo (Yang et al., 2011). Parece que el modelo es poco robusto (por ejemplo, un gen mayor o un efecto fijo no considerado alterarían las estimaciones genéticas de V_e), lo que hace más interesante el seleccionar directamente por V_e , sin tener que estimar los valores genéticos mediante el modelo. Da la impresión de que la varianza deba aumentar con la media por una razón de escala. En realidad V_p aumenta con la media de TC de la hembra cuando las camadas son pequeñas, pero las conejas con alto TC medio tienen todos sus partos numerosos, por lo que la correlación es negativa.

Suponemos que las conejas de tamaños de camada muy variable tienen peor salud y están más estresadas, lo que examinamos en otra comunicación. Aquí podemos ver que parece que el intervalo entre partos aumenta, así como su varianza, con la variabilidad del tamaño de camada, lo que sería un indicio de esta falta de bienestar.

CONCLUSIÓN

Ha habido respuesta a la selección por varianza ambiental en tamaño de camada, con una respuesta correlacionada negativa en tamaño de camada medio. El intervalo entre partos y su variabilidad aumentan con la variabilidad del tamaño de camada.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado con el proyecto AGL2008-05514-C02-02.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argente, M.J., Garcia, M.L., Muelas, R., Birlanga, V. & Blasco, A. 2011. XIV Jornadas sobre Producción Animal.
- Gutiérrez, J.P., Nieto, B., Piqueras, P., Ibáñez, N. & Salgado, C. 2006. Genet. Sel. Evol. 38:445-462.
- Sorensen, D. & Gianola, D. 2002. Springer, New York. USA.

• Sorensen, D. & Waagepetersen, R. 2003. Genetical Research 82: 202-222. • Yang, Y., Christensen, O.F. & Sorensen, D. 2001. Genet. Res. (En prensa).

Tabla 1. Parámetros de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre las líneas de alta (H) y de baja (L) variabilidad del tamaño de camada para la varianza fenotípica del tamaño de camada dentro de hembra después de corregir el tamaño de camada por año-estación y el estado de lactación (Ve), varianza fenotípica del tamaño de camada sin corregir (Vp), el tamaño de camada (TC), intervalo entre partos (IP) y la varianza del intervalo entre partos dentro de hembra (V_{IP}).

Base	Generación 1			Generación 2			Generación 3			Generación 4			
	D	HPD _{95%}	P(%)	D	HPD _{95%}	P(%)	D	HPD _{95%}	P(%)	D	HPD _{95%}	P(%)	
Ve	3.71	0.70	-0.04, 1.47	97	0.55	-0.16, 1.39	91	0.65	-0.19, 1.45	94	0.64	-0.19, 1.44	93
Vp	3.95	0.58	-0.17, 1.39	93	0.42	-0.35, 1.25	84	0.75	-0.10, 1.60	96	0.81	-0.06, 1.63	97
TC	8.71	-0.37	-0.82, 0.06	94	-0.31	-0.82, 0.14	90	-0.92	-1.41, -0.45	100	-0.65	-1.17, -0.24	100
IP, días	50.85	-1.23	-3.61, 1.17	85	1.04	-1.48, 3.61	78	1.18	-1.68, 3.58	81	2.07	-0.52, 4.57	94
V _{IP}	103.87	-0.80	-52.35, 51.09	51	40.88	-13.80, 96.44	92	64.99	3.04, 117.02	99	64.08	7.88, 118.26	99

D: mediana posterior de la diferencia entre las líneas H y L. HPD_{95%}: región de alta densidad posterior al 95%. P: P(D>0) cuando D>0 y P(D<0) cuando D<0.

RESULTS OF THE FIRST FOUR GENERATIONS OF DIVERGENT SELECTION FOR ENVIRONMENTAL VARIABILITY IN THE LITTER SIZE IN RABBIT

ABSTRACT: A divergent selection experiment on phenotypic variance of litter size was carried out in rabbits. Selection was based on phenotypic variance of litter size for each doe after correcting litter size for the effects of year-season and lactation status (Ve). Selection pressure on does was approximately 30% in each line. Males were chosen within sire families in order to avoid the increase of inbreeding. Results of the first four generations of selection were analyzed using Bayesian methods. The High line (H) showed a higher Ve than the Low line (L) in the first generation of selection (0.70, P(D>0) = 97%). This difference is conserved in the following generations. Selection for Ve shows a negative correlated response with litter size and interval between parities. Parity interval increases has a positive correlated response with variability.

Keywords: Canalisation, environmental variance, litter size, rabbits

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO EN SELECCIÓN POR GRASA INTRAMUSCULAR EN CONEJO

Zomeño, C., Hernández, P. y Blasco, A.

Instituto de Ciencia y Tecnología Animal. Universidad Politécnica de Valencia.

*crizose@posgrado.upv.es

INTRODUCCIÓN

El contenido en grasa intramuscular (GIM) es una característica de la carne importante ya que está relacionada con la salud y nutrición humana y con la calidad sensorial de la carne (Wood et al., 2008). El contenido en GIM puede ser modificado mediante selección debido a la elevada heredabilidad y variabilidad del carácter (Sellier, 1998). El conejo presenta un bajo contenido en grasa intramuscular, por lo que la selección para aumentar este carácter podría mejorar la calidad de la carne.

Los métodos químicos que habitualmente se utilizan para determinar el contenido en GIM son lentos, laboriosos, caros y destructivos. La espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS) podría ser una alternativa adecuada a estos métodos químicos. Numerosos estudios han confirmado la capacidad de la metodología NIRS para estimar el contenido en GIM en varias especies (revisado por Prieto et al., 2009), aunque solo unos pocos se han realizado en conejo (Masoero et al., 1994; Pla et al., 2004; Bázár et al., 2007). Los programas genéticos requieren una gran cantidad de datos, de forma que es necesario disponer de una técnica analítica rápida, precisa y barata para estimar el contenido en GIM en todos los animales. Sin embargo, no se han realizado hasta ahora estudios sobre la aplicación del NIRS en selección por GIM en conejo.

Los objetivos de este estudio son obtener una calibración NIRS para estimar el contenido en GIM en el músculo *Longissimus* del conejo y evaluar la posibilidad de utilizar la metodología NIRS para la determinación de GIM en programas de selección de conejo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la calibración NIRS se utilizaron 137 conejos (58 hembras y 79 machos) procedentes de 3 líneas sintéticas diferentes que fueron sacrificados entre 5 y 61 semanas de edad. Para estudiar la posible aplicación de NIRS en selección se utilizaron 88 conejos, diferentes a los utilizados para la calibración, que fueron sacrificados a 9 semanas de edad.

Todos los animales fueron aturdidos eléctricamente previamente al sacrificio. Después del sacrificio y sangrado, las canales se almacenaron entre 3-5°C. A las 24 horas post mortem se separaron los músculos *Longissimus* de la canal, se picaron, liofilizaron, envasaron a vacío y almacenaron a -80°C hasta el momento de los análisis.

El contenido en grasa del músculo *Longissimus* se determinó por triplicado mediante extracción con éter dietílico (Soxtec 1043 extraction unit, Tecator) previa hidrólisis ácida (Soxcap 2047, Tecator). Los resultados se expresaron como gramos de lípidos por 100 gramos de tejido fresco.

La recogida de espectros se realizó en un equipo NIRSystem 5000 (rango de longitudes de onda entre 1100 y 2498 nm) con cápsulas circulares de cristal de cuarzo de 3.8 cm de diámetro. Se obtuvieron 4 espectros por muestra que se promediaron para el tratamiento quimiométrico posterior con el programa WINISI 4 ver. 1.60 (Infrasoft International, LLC and FOSS). Las ecuaciones de predicción se obtuvieron por regresión multivariante de mínimos cuadrados parciales modificada (MPLS) y los estadísticos utilizados para la elección de la mejor ecuación fueron el error típico de validación cruzada (ETVC), el coeficiente de determinación de la validación cruzada (r^2), el RPD (DT/ETVC) y el RER (Rango/ETVC).

Los estadísticos descriptivos, los de regresión y las medidas de asociación no paramétricas (correlación de Spearman y correlación Tau-b de Kendall) se estimaron con el paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros de la ecuación de calibración obtenida (Tabla 1) muestran una buena precisión y fiabilidad para estimar GIM en el músculo *Longissimus*. Los valores de RPD y RER superan a los recomendados por Williams y Sobering (1996). Los resultados obtenidos son similares a los observados por otros autores en carne de conejo (Masoero et al., 1994; Pla et al., 2004), pollo (Abeni et al., 2001), vacuno y cerdo (Prevolnik et al., 2005).

La Tabla 2 muestra los estadísticos descriptivos del contenido en GIM de conejos analizados con métodos químicos y NIRS. No se han observado diferencias entre los dos métodos de análisis ($p>0.05$) ni entre sexos ($p>0.05$). Las medias, errores estándar y coeficientes de variación fueron similares para los dos métodos aunque el rango fue ligeramente diferente. Estos resultados indican que la tecnología NIRS podría ser adecuada para comparar diferentes tratamientos o diferentes poblaciones. Sin embargo, la regresión entre los valores de GIM obtenidos con métodos químicos y los obtenidos por NIRS (Tabla 3) indican que NIRS podría no ser una técnica suficientemente precisa para predecir valores genéticos individuales de GIM. Los valores genéticos individuales se pueden utilizar, como ocurre en vacuno y ovino, para establecer órdenes de animales que frecuentemente están relacionados con su valor económico. En nuestro caso, para GIM los coeficientes de correlación de Spearman y de Kendall ($r=0.95$ y 0.83 , respectivamente) indican (particularmente el segundo) que los órdenes de animales basados en GIM serían diferentes si se utilizan los métodos químicos o la metodología NIRS para estimar el carácter.

Las predicciones individuales se pueden utilizar también en la selección truncada, procedimiento ampliamente utilizado en cerdos, aves y conejos. El posible uso de la tecnología NIRS en selección por GIM va a depender de si la respuesta obtenida utilizando como criterio de selección NIRS es similar a la obtenida utilizando los métodos químicos. Disponemos de 88 individuos (44 hembras y 44 machos) a los que se les ha estimado el contenido en GIM con métodos químicos y NIRS. Seleccionando 10 hembras y 5 machos según su evaluación por NIRS para constituir la siguiente generación, lo que correspondería a una presión de selección del 23% en las hembras y del 11% en los machos, presiones habituales en experimentos de selección en conejos. Los conejos seleccionados presentarían una media de GIM medida en análisis químicos de 1.408 g/100g. Si hubiéramos seleccionado por métodos químicos utilizando las mismas presiones de selección, habríamos obtenido una media de los individuos seleccionados de 1.416 g/100g, únicamente un 0.5% mayor que el de los animales seleccionados por NIRS.

Como conclusiones, se ha obtenido una ecuación de calibración precisa para estimar GIM en *Longissimus* de conejo. Se ha comprobado que NIRS es una técnica adecuada para la comparación de medias pero no sería suficientemente precisa para ordenar valores genéticos individuales. Los valores químicos de GIM de los individuos seleccionados por NIRS son similares a los que se obtendrían si se seleccionara directamente por el método químico. Esto nos permite afirmar que la respuesta obtenida por NIRS sería similar a la obtenida usando valores provenientes del análisis químico. El método NIRS es, pues, una alternativa razonable al análisis químico para ser utilizado en selección en conejo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abeni, F. & Bergoglio, G. 2001. Meat Sci. 57: 133-137.
- Bázár, G.Y, Princz, Z., Jekkel, G., Locsmándi, L., Andrásy-Baka, G., Kövér, G.Y, Szendrő, Z.S. & Romvári, R. 2007. Agriculture 13: 155-158.
- Masoero, G., Xiccato, G., Dalle Zotte, A., Parigi Bini, R. & Bergoglio, G. 1994. Zootec. Nutr. Anim. 20: 319-329.
- Pla, M., Pascual, M. & Ariño, B. 2004. World Rabbit Sci. 12: 149-158.
- Prevolnik, M., Čandek-Potokar, M., Škorjanc, D., Velikonja-Bolta, Š., Škrlep, M., Žnidaršič, T. & Babnik, D. 2005. J. Near Infrared Spec. 13: 77-86.
- Prieto, N., Roehe, R., Lavín, P., Batten, G. & Andrés, S. 2009. Meat Sci. 83: 175-186.
- SAS, 2002. Statistical Analysis System Institute Inc, Cary, NC, USA.
- Sellier, P. 1998. The Genetics of the Pig. CAB Int., New York, USA, 463-510.
- Suzuki, K., Kadowaki, H., Shibata, T., Uchida, H. & Nishida, A. 2005. Livest. Prod. Sci. 97: 193-202.
- Williams, P. & Sobering, D. 1996. Near Infrared Spectroscopy: The future waves. 185-188.
- Wood, J.D., Enser, M.,

Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I. & Whittington, F.M. 2008. Meat Sci. 78: 343–358.

Agradecimientos: A Verónica Juste por el trabajo realizado en el laboratorio. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto AGL2008-05514-C02 del Ministerio de Ciencia e Innovación y PROMETEO/2009/125 de la Generalitat Valenciana.

Tabla 1. Parámetros estadísticos de la ecuación de calibración obtenida para grasa intramuscular (GIM) de conejo.

N	Media	DT	Rango	ETVC	r ²	RPD	RER
129	1.29	0.53	0.75-3.25	0.07	0.98	7.57	35.71

N: número de muestras, DT: desviación típica, ETVC: error típico de validación cruzada, r²: coeficiente de determinación de validación cruzada, RPD=DT/ETVC, RER=Rango/ETVC.

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de la grasa intramuscular (GIM) de conejo analizada por análisis químicos y tecnología NIRS.

Método	N	Media	EE	DT	Rango	CVx100
Químicos	88	1.19	0.02	0.17	0.87-1.73	14.3
NIRS	88	1.22	0.02	0.16	0.93-1.67	13.1

N: número de muestras, EE: error estándar, DT: desviación típica, CV: coeficiente de variación

Tabla 3. Estadísticos de regresión entre la grasa intramuscular (GIM) analizada por métodos químicos y analizada por la tecnología NIRS.

N	Pendiente	EE	R ²	RSD
88	0.99	0.03	0.92	0.05

N: número de muestras, EE: error estándar de la pendiente, RSD: desviación estándar residual.

USE OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY FOR INTRAMUSCULAR FAT SELECTION IN RABBITS

ABSTRACT: The potential use of near infrared spectroscopy (NIRS) for the determination of intramuscular fat (IMF) content in rabbit selection programmes was evaluated. 137 rabbits from three different synthetic lines slaughtered between 5 and 61 weeks of age were used for NIR calibration. *Longissimus* muscles were ground, freeze-dried, scanned by NIRS reflectance and fat content was chemically analysed. Parameters of calibration equation reported appropriate results for IMF (SECV=0.07; r²=0.98 and RPD= 7.57). Another 88 rabbits were used to study the suitability of NIR spectroscopy in selection programmes. IMF was studied in *Longissimus* using chemical and NIRS analyses. Descriptive statistics showed that NIRS could be a proper technique to average comparison but regression analyses (r-square=0.92) indicated that NIRS would not accurate enough to predict genetic individual values for ranking of animals. However, NIRS technique could be applied in truncated selection where the efficiency of the method is measured by the response to selection. Chemical IMF values of selected individuals using NIRS criterion were similar to those obtained if selection had been carried out using chemical criterion. Results of the present experiment confirmed the potential of NIRS for the determination of IMF content in rabbit selection programmes instead of using laborious chemical methods.

Keywords: intramuscular fat, NIR spectroscopy, rabbit, selection

EVALUACIÓN PRELIMINAR DE PROCEDIMIENTOS DE SELECCIÓN GENÓMICA EN UNA POBLACIÓN DE GANADO OVINO LECHERO DE RAZA CHURRA

Sánchez, J.P.¹, García-Gámez, E.², Gutiérrez-Gil, B.² y Arranz, J. J.²

¹Departamento de Ciencia Animal, Universidad Politécnica de Valencia.

²Departamento de Producción Animal, Universidad de León.

juansan@dca.upv.es

INTRODUCCIÓN

Aunque se han desarrollado numerosas investigaciones con el objetivo de definir la determinación genética de los caracteres más relevantes en la producción lechera de oveja, el uso práctico de esta información en los programas de mejora genética es prácticamente nulo. La razón fundamental es la poca precisión en el posicionamiento de las mutaciones causales a lo largo del genoma, ya que éstas, en general, están en equilibrio de ligamiento con los microsatélites que, generalmente, se han usado como marcadores. Con la disponibilidad de paneles muy densos de marcadores moleculares, chips de SNPs, algunos de ellos van a estar en desequilibrio de ligamiento con las mutaciones causales y por lo tanto será factible usarlos en programas de selección. Para ello se han propuesto distintas alternativas, y parece ser que entre las más apropiadas se encuentran los métodos que se han llamado de selección genómica, en el que los candidatos a la selección se genotipan para un conjunto de marcadores, para los que previamente se ha obtenido un estima de su efecto, y aplicando estas estimas a los genotipos se predice el valor genético genómico de los candidatos.

En el presente estudio se pretende comparar un procedimiento de selección genómica en el que se lleva a cabo un filtrado de las regiones del genoma a considerar, basado en un procedimiento LDLA (utiliza de manera conjunta la información de ligamiento y de desequilibrio de ligamiento) uni-QTL scan; y otro en el que se modelan conjuntamente con un algoritmo de regularización el efecto de todos los SNPs de forma simultánea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon YDs de ovejas de la raza Churra incluidas en el programa de mejora para la producción de leche de la raza. Estas YDs se computaron durante la evaluación de Junio de 2010. La precisión por la que ponderar estas YDs se computó siguiendo las fórmulas descritas por Garrick et al. (2009). El total de YDs (~ 900) se dividió en dos grupos, uno para el entrenamiento de los modelos y otro para validación. El segundo se constituyó con las YDs del 25% de los animales más jóvenes. Para todo estos animales se disponía de información del chip de 54K SNPs de Illumina, tras la edición de errores de genotipado, validando, los resultados del genotipado con la información genealógica, y descartar posiciones con una frecuencia alélica inferior al 5%, se procedió a la reconstrucción de haplotipos cromosómicos utilizando el programa DualPhase (Druet y Georges, 2009). Después del proceso de edición y de reconstrucción de haplotipos cromosómicos se retuvieron un total de 46,387 SNPs en los 26 autosomas.

Los caracteres considerados fueron producción de leche real (**Lreal**) y ordeñada (**L120**) por lactación, producción de leche por control (**MY**), producción y porcentaje de proteína por control (**PY**, **PP**), producción y porcentaje de grasa por control (**FY**, **FP**), recuento de células somáticas (**SCS**), prolificidad (**NV**) y éxito/fracaso a la inseminación artificial (**IA**). La tabla 1 muestra el número de YDs consideradas en los conjuntos de entrenamiento y validación.

Se llevaron a cabo dos tipos de análisis para implementar el procedimiento de selección genómica. En primer lugar (**SAM**) se implementó un procedimiento similar al empleado en las poblaciones de vacuno francesas (Boichart et al., 2010). Inicialmente se llevó a cabo una selección de regiones QTLs utilizando un modelo de QTL aleatorio que utiliza de manera conjunta la información de ligamiento y de desequilibrio de ligamiento (Druet et al., 2008). Después, y también sobre la población de entrenamiento se predijeron los efectos de los haplotipos definidos en las mencionadas regiones, así como los valores genéticos aditivos de todos los animales de la genealogía (población de entrenamiento y de validación). La predicción de las YDs de los animales de la población de validación será la suma de los efectos haplotípicos y su valor genético poligénico, ambos predichos con los datos del grupo de entrenamiento. Este procedimiento se repitió en tres situaciones diferentes de error tipo I (0.05, 0.01 y 0.001) del test de ratio de verosimilitud para declarar los QTLs como tales.

El otro método de análisis considerado es una red elástica (**EN**) (Friedman et al., 2010). La red elástica es un procedimiento de regularización que combina penalizaciones L1 y L2. Hay un parámetro α que define el peso que recibe cada una de estas dos penalizaciones y otro λ que define la intensidad de la penalización.

$$\bar{\beta}_{EN} = \arg \min \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \bar{x}_i' \beta)^2 + \lambda \left((1-\alpha) \sum_{j=1}^M \frac{\beta_j^2}{2} + \alpha \sum_{j=1}^M |\beta_j| \right) \right\}$$

En nuestro caso α se mantuvo fijo en 0.9. Este es un procedimiento cercano al Lasso (L1) con el que se conseguirá para un gran número de SNPs de efecto muy pequeño que éste quede finalmente truncado a cero; si el valor de α hubiese sido cercano a cero entonces la red elástica sería similar a una Ridge Regresión (L2). El valor de λ que mejor se comportó para cada carácter se obtuvo mediante una validación interna a la base de datos de entrenamiento. Por lo tanto en este caso la tabla de entrenamiento se volvió a subdividir usando el 75% de los datos para estimar los parámetros de la red elástica para un conjunto de valores de λ , el subconjunto de validación interna se empleó para determinar qué conjunto de estos parámetros, asociados a los distintos valores de λ , era el que mejor predecía YDs hasta ahora no consideradas. Se empleó el paquete glmnet de R (Friedman et al., 2010) para llevar a cabo los análisis. Finalmente el conjunto de parámetros considerados (efectos de SNPs) se utilizó para predecir las YDs del conjunto de validación, i.e. las YDs del 25% de animales más jóvenes.

Para ambos procedimientos la calidad de la predicción se evalúa computando la correlación, ponderada por la precisión de las YDs observadas, entre las YDs observadas en la base de datos de validación y sus predicciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra la calidad de las predicciones realizadas variando el método de predicción. Para el procedimiento SAM se presentan distintos resultados en función del error tipo I asumido en la etapa de detección de QTLs. Entre paréntesis se muestra el número de regiones QTLs o SNPs que se consideran en la predicción.

Se observa que para FP, FY y SCS las predicciones utilizando información molecular nunca fueron mejores que la predicción de pedigri. Para el resto de caracteres las mejoras en la predicción por el uso de información molecular variaron entre más de un 100% para NV, que pasa de una correlación de 0.01 a otra 0.14 al considerarse los genotipos de 268 SNPs; o más de un 230% para la leche ordeñada (L120), que pasa de una correlación de 0.07 en ausencia de información molecular a 0.16 cuando se considera el genotipo de 14 SNPs. El carácter para el que la ganancia de calidad en la predicción fue menor al considerar información molecular fue PY que sólo la incrementó un 12%, a pesar de que se consideró el genotipo de 366 SNPs. En el resto de caracteres las mejoras rondaron el 30-40%. Merece la pena señalar que salvo para MY e IA el método de uso de información molecular que mejores resultados ofreció fue la EN.

Estos resultados son preliminares pero ofrecen una evidencia de la posibilidad de uso de información de paneles de SNPs en ganado ovino de producción lechera. Sería de interés realizar estas validaciones cuando la cantidad de datos disponibles sea mayor, se prevé llegar a tener el genotipo de al menos 1500 hembras, utilizando algún otro método de los propuestos para implementar la selección genómica y probando otras alternativas para el particionado de la base de datos, la empleada probablemente no sea óptima, ya que todos las hembras de las que se tienen genotipo son coetáneas y en este caso el parentesco entre ambos grupos no es el que se tendría en una situación real de selección genómica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Boichard, D., Guillaume, F., Baur, A., Croiseau, P., Rossignol, M.N., Boscher, M.Y., Druet, T., Genestout, L., Eggen, A., Journaux, L. & Ducrocq V. 2010. Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Comunicación ID716.
- Druet, T., Fritz, S., Boussaha, M., Ben-jemaa, S., Guillaume, F., Derbala, D., Zelenika, D., Lechner, D., Charon, C., Boichard, D., Gut, I. G., Eggen, A. & Gautier, M. 2008. *Genetics* 178(4):2227-2235.
- Druet, T. & Georges, M. 2010. *Genetics* 184 (3): 789-798.
- Friedman, J., Hastie, T. &

Tibshirani R. 2010. J. Stat. Softw. 33(1): 1-22.. • Garrick, D.J., Taylor, J. F. & Fernando, R. L., 2009. Genet. Sel. Evol. 41:55.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por el proyecto CICYT AGL2009-07000.

Tabla 1. Correlaciones entre las predicciones de YD's de animales jóvenes y sus valores observados, entre paréntesis el número de SNPs o QTLs considerados.

Carácter ¹	N Entre.	N Vali.	Índice Ped.		SAM			EN
			P	ρ $\alpha=0.05$	ρ $\alpha=0.01$	ρ $\alpha=0.001$	ρ	
L120	670	222	0.05	0.07(111)	0.09(27)	0.00(4)	0.16(14)	
Lreal	669	222	0.14	0.08(150)	0.04(50)	0.01(9)	0.19(129)	
MY	668	209	0.20	0.19(137)	0.28(47)	0.25(7)	0.22(13)	
PP	666	211	0.36	0.34(113)	0.23(27)	0.34(4)	0.46(43)	
PY	666	211	0.13	0.03(118)	0.12(31)	0.00(4)	0.15(366)	
FP	666	211	0.46	0.39(101)	0.31(29)	0.34(5)	0.43(84)	
FY	666	211	0.25	0.14(99)	0.17(26)	0.20(4)	0.17(2)	
SCS	666	211	0.57	0.47(124)	0.43(26)	0.40(3)	0.51(59)	
NV	670	222	0.01	0.08(110)	0.04(27)	0.04(6)	0.14(268)	
IA	593	182	0.06	0.08(86)	0.04(16)	0.00(1)	0.05(60)	

¹Ver definición en el texto.

PRELIMINARY EVALUATION OF GENOMIC SELECTION PROCEDURES IN THE CHURRA DAIRY POPULATION

ABSTRACT: 52K SNP chip of about 900 Churra females where used to assess the performance of two procedures for considering this molecular information in genetic evaluation of different production and reproduction traits. In one hand a haplotype based MAS procedure after LDLA uni-QTL scan was used, in the other an Elastic Net (EN) was employed on SNP genotypes. Given the limited size of the data set, as well as its structure, results must be considered with caution. In general EN showed a better performance than any of the MAS procedures assessed. Prolificacy and milked milk were those traits showing the highest gain in accuracy after considering SNPs information. Fat traits and somatic cell score did not show any gain after including molecular information, for these traits an unexpected high accuracy was observed when only pedigree information was used, this could be an indication of a suboptimal partitioning procedure.

Keywords: Genomic Selection, MAS, Dairy Sheep

PREDICCIÓN GENÓMICA EN PRESENCIA DE ESTRATIFICACIÓN DE POBLACIONES

González-Recio, O.¹, Forni, S.², Gianola, D.^{3,4}, Rosa, G.J.M.⁴ y Weigel, K.A.³

¹Departamento de Mejora Genética Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria. Ctra. La Coruña km 7,5. 28040 Madrid.

²PIC/GENUS Plc. 100 Bluegrass Commons Blvd ste 2200, Hendersonville, TN 37075 (USA).

³Dairy Sci. Dpt. University of Wisconsin-Madison. 1675 Observatory Dr., WI 53706 (USA)

⁴Animal Sci. Dpt. University of Wisconsin-Madison. 1675 Observatory Dr., WI 53706 (USA)

Correo electrónico: gonzalez.oscar@inia.es

INTRODUCCIÓN

La información genómica ha permitido incrementar la precisión de las evaluaciones genéticas en poblaciones domésticas, tanto vegetales como animales, así como disminuir el intervalo generacional. Esta precisión aumenta cuanto mayor es el tamaño de la muestra de referencia sobre la que se entrenan los modelos estadísticos usados para predecir el mérito genético de los individuos de la población (Consortium, WTCC. 2007; Van Raden et al., 2009). Esto ha llevado a que, en ocasiones, se usen muestras de poblaciones heterogéneas de menores tamaños para aumentar el tamaño de la muestra de entrenamiento y así aumentar la precisión de las predicciones. Hasta la fecha los resultados no han sido del todo convincentes, sobre todo cuanto más alejadas genéticamente son las poblaciones que componen la muestra de referencia (Goddard y Hayes, 2009; Hayes et al., 2009; Ibañez-Escriche et al., 2009; Toosi et al., 2010).

Es posible que esto se deba a la interacción genotipo ambiente o a la diferente base genética de las poblaciones. Por ejemplo, dos poblaciones con diferente nivel productivo seguramente diferirán en las frecuencias alélicas de algunos marcadores genotipados en los chips actuales. Estos marcadores con diferente frecuencia alélica pueden estar o no en desequilibrio de ligamiento con QTL asociados al carácter de interés. Las técnicas estadísticas tradicionales pueden conducir a asociaciones espurias en el caso de que estos marcadores no estén asociados al QTL, lo que afectará en mayor o menor medida en función de la cantidad de marcadores que se encuentren en estas circunstancias, y de la magnitud de las diferencias de sus frecuencias alélicas. También, es factible que la frecuencia de algunas combinaciones genotípicas sea marcadamente diferente en las muestras de entrenamiento y de predicción; en el lenguaje de la regresión, esto implica que habrían partes de la “región experimental” que no son cubiertas por el modelo de entrenamiento, y esto puede ser crucial cuando hay variabilidad de tipo no-aditiva. En consecuencia, es esperable que la estratificación genética de las poblaciones tenga un importante efecto sobre la precisión de las predicciones en poblaciones heterogéneas. Es importante detectar dicha estratificación de poblaciones y desarrollar estrategias para corregir, en la medida de lo posible, la estratificación de poblaciones en multipoblaciones.

Los métodos no paramétricos han mostrado ciertas ventajas en relación a los métodos tradicionales a la hora de predecir el valor genético de animales y plantas usando información del genoma completo (de los Campos et al., 2010). En este trabajo se propone la utilización del algoritmo de bosques aleatorios (Random Forest, **RF**; Breiman, 2001) para detectar la estratificación de poblaciones, y clasificar individuos dentro de multipoblaciones, construyendo eventualmente una matriz de similitudes genéticas que pueda ser usada en como matriz de kernels en regresiones no paramétricas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Datos

Se utilizaron datos de tres líneas (poblaciones) porcinas cedidos por la empresa PIC North America, Genus Plc. Dos de estas líneas (Línea A y Línea B) representan poblaciones de animales puros del núcleo de selección (923 y 919 individuos respectivamente), mientras que la tercera línea (C), formada por 700 individuos, fue una población cruce de la línea A con otras líneas no especificadas (sin contener Línea B). Todos los individuos fueron genotipados por 6742 SNP identificados previamente en regiones candidatas asociadas a hernia escrotal. Tras

una edición de genotipos se utilizaron en los análisis finales 5302 SNPs codificados como 0, 1 o 2, dependiendo del número de un determinado alelo que presentaban para cada SNP. Para poder evaluar la capacidad predictiva de los métodos, los análisis se realizaron bajo un escenario de validación cruzada dejando el 15% de los individuos más jóvenes como muestra de predicción, que no fue usada en absoluto para entrenar los algoritmos.

Detección de estratificación de poblaciones

Se usó el algoritmo de bosques aleatorios para clasificar los animales en los diferentes estratos de población, y se evaluó la capacidad predictiva de clasificación para nuevos animales de los cuales no se conocería a priori a que población pertenecen. Se construyeron 2000 árboles utilizando la multi-población compuesta por las 3 líneas. Cada árbol $h_i(\mathbf{X})$ se construye utilizando un subconjunto de la muestra de aprendizaje muestreado al azar con repetición (bootstrapping) y mediante sencillas reglas basadas en diferentes combinaciones de genotipos asigna cada individuo a un estrato. Cada individuo es asignado a un nodo terminal dentro de cada árbol en el que coincide con otros individuos. Estos nodos terminales predicen la población a la que pertenecen sus individuos en función de la población mayoritaria de individuos en dicho nodo. Se promediaron los 2000 árboles para obtener una estimación final de cada individuo. Los individuos del conjunto de datos de predicción son pasados a posteriori por cada uno de los árboles, y son asignados a la población mayoritaria del nodo terminal al que llegan, y promediados a lo largo del RF.

Matriz de similitudes genéticas

A partir del resultado del RF se construyó una matriz (\mathbf{K}) de similitudes genéticas de dimensiones 2542x2542, el número total de animales. Cada elemento de la matriz ($k_{i,j}$) refleja el parecido genómico ($\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j$) entre pares de individuos, y se calcula como el porcentaje de árboles en el que los individuos i y j coinciden en el mismo nodo terminal. Los elementos $k_{i,j}$ se expresan en un rango entre 0 y 1, siendo 1 si los individuos i y j coinciden en el mismo nodo terminal en todos los árboles, y 0 en el caso de que no coincidan en ningún árbol. Tanto los individuos de la muestra de aprendizaje como los de la muestra de validación están representados en esta matriz, ya que como se ha comentado anteriormente, los individuos de la muestra de validación son pasados a través del árbol a posteriori, y terminan en un nodo, en el cual coinciden con otros individuos del conjunto total de datos. Se realizó un análisis de componentes principales, calculando los autovectores y autovalores sobre esta matriz para identificar los posibles estratos de poblaciones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra un gráfico de los tres primeros autovectores de la matriz \mathbf{K} . Se muestran los individuos de las líneas A, B y C en color negro, rojo y verde, respectivamente. Los individuos de la muestra de aprendizaje aparecen representados con puntos, mientras que los individuos en la muestra de validación se representan como triángulos. En esta figura se puede ver como el algoritmo RF separa los individuos en la muestra de aprendizaje (puntos) de cada una de las poblaciones, y además es capaz de predecir y asignar correctamente la población a la que pertenecen los individuos de la muestra de validación (triángulos). También es posible ver como los individuos de las poblaciones A y C, están más próximos entre sí, que con respecto a los individuos de la línea B, lo que es esperable ya que la línea C es un producto del cruce de individuos de la línea A. La Tabla 1 muestra el valor medio de los elementos $k_{i,j}$ de la matriz de similitudes para cada una de las líneas. Se observa que la población B es más homogénea, mientras que la población C es la más heterogénea (menores valores de similitud entre individuos), lo cual es esperable debido a que la población de la línea C proviene de un cruce de diferentes líneas.

Este trabajo muestra algunos resultados preliminares para el tratamiento de la estratificación de poblaciones en la predicción de mérito genético usando información genómica.

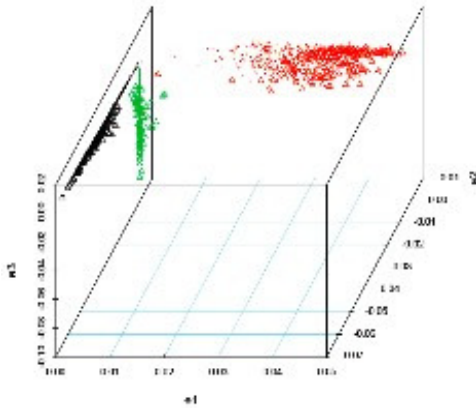


Figura 1. Representa los 3 primeros autovectores de la matriz de similitud resultante del algoritmo RF. Cada color representa una población. Los individuos del set de aprendizaje y del set de validación se representan como puntos y triángulos respectivamente.

El algoritmo RF permite detectar estratificación de poblaciones en muestras de poblaciones heterogéneas, y a su vez produce una matriz de similitudes genómicas que puede ser usada como matriz de kernels en regresiones no paramétricas del tipo RKHS (Gianola et al., 2006). Además, el algoritmo RF permite calcular la importancia de cada SNP en la estratificación de poblaciones, pudiendo así detectar aquellos SNPs que pueden provocar asociaciones espurias o magnitudes sesgadas de las estimas de su efecto sobre el carácter. Es necesario que trabajos futuros se centren en el desarrollo de estos métodos, para poder paliar el efecto de la estratificación de poblaciones en las predicciones genómicas usando poblaciones heterogéneas, y comparar su comportamiento con métodos usados actualmente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Breiman L. Machine Learning 45(1):5-32, 2001.
- Consortium, WTCC. 2007. Nature Rev. Genet. 447:661-678.
- De los Campos, G., Gianola, D. & Allison, D.B. 2010. Nature Rev. Genet. 11: 880-886.
- Gianola, D., Fernando, R.L. & Stella, A. 2006 Genetics 173: 1761-1776.
- Goddard, M.E. & Hayes B.J. 2009. Nature Rev. Genet. 10:381-391.
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.C., Verbyla, K. & Goddard, M.E. 2009. Genet. Sel. Evol. 41:51.
- Ibañez-Escriche, N., Fernando, R.L., Toosi, A. & Dekkers, J.C.M. 2009. Genet. Sel. Evol. 41:12-22.
- Toosi, A., Fernando, R.L. & Dekkers, J.C.M. 2010. J. Anim. Sci. 88(1): 32-46.
- VanRaden, P.M., Van Tasell, C.P., Wiggands, G.R., Sonstegard, T.S., Schnabel, R.D., Taylor, J.F. & Schenkel, F. 2009. J. Dairy Sci. 92:16-24.

GENOME WIDE PREDICTION OF GENETIC MERIT IN THE PRESENCE OF POPULATION ESTRATIFICATION

ABSTRACT: This study aims to account for population stratification when several populations are used in a genome-wide prediction context. The Random Forest algorithm is used to create a similarity matrix to cluster individuals according to sub-populations. At the same time, such matrix can be used as a kernel for future non-parametric genome-wide prediction methods.

Keywords: population stratification, non-parametric methods, genomic selection.

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN GENÓMICO PARA CARACTERES DE CRECIMIENTO, CANAL Y CALIDAD DE LA CARNE EN CERDOS

Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Castelló, A., Rodríguez, C., Alves, E., Casellas, J., Noguera, J.L., Díaz, I., Pérez-Enciso, M., Fernández, A.I. y Folch, J.M.

Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193, Bellaterra, Spain. E-mail: yulixaxis.ramayo@uab.es

INTRODUCCIÓN

Desde la aparición de la Genómica en la década de los 90, un objetivo importante de la genética animal ha sido descifrar la base molecular de los caracteres de interés socio-económico en especies domésticas. El *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, Santa Clara, CA, EUA) ha constituido una valiosa herramienta y ha permitido incrementar el número y densidad de marcadores para evaluar la asociación entre el genotipo de los *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) y los fenotipos de caracteres productivos. En comparación con la detección clásica de QTLs, los estudios de asociación con SNPs distribuidos a lo largo del genoma (*Genome-Wide Association Study*, GWAS) permiten capturar una mayor proporción de la varianza genética, especialmente dentro de líneas o razas. Se ha demostrado mediante simulaciones que sobre todo para grandes tamaños muestrales los estudios de asociación (GWAS) permiten incrementar la potencia y precisión de las estimas, facilitando por tanto la elección y mapeo fino de genes candidatos (Ledur et al., 2010). Estudios previos de nuestro grupo han identificado QTLs para un importante número de caracteres implicados en la variación fenotípica de la calidad de la carne y composición de ácidos grasos en un cruce Ibérico x Landrace (IBMAP) (Perez-Enciso et al., 2000; Varona et al., 2002; Clop et al., 2003; Mercadé et al., 2005). Los objetivos del presente trabajo son la implementación del GWAS con información genotípica de SNPs en tres cruces experimentales para evaluar la segregación de los QTLs previamente descritos e identificar nuevas regiones y genes candidatos asociados al crecimiento, conformación y la calidad de la carne porcina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal y fenotipos. Se analizaron un total de 279 individuos pertenecientes a tres generaciones del cruce IBMAP: 56 F3 y dos retrocruces con hembras Landrace (79 BC y 144 BC1_LD). En el estudio de asociación se incluyeron un total de 41 fenotipos (14 entre crecimiento y calidad de la canal y 27 entre composición e índices metabólicos de los ácidos grasos).

Genotipado y control de calidad. Los individuos fueron genotipados con el *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina) utilizando el protocolo *Infinium HD Assay Ultra* (Illumina). Inicialmente, se partió de un total de 62.612 SNPs con un *call rate* superior a 0,98. Utilizando el programa *Plink* (Purcell et al., 2007), se actualizaron las coordenadas genómicas según la última versión de la secuencia del genoma porcino (*Sscrofa10 Assembly*). Se eliminaron posteriormente los SNPs localizados en más de dos posiciones así como los que tenían una *Minor Allele Frequency* (MAF) inferior al 5 % y valores de *missing genotypes* superiores al 5%. Finalmente, se obtuvieron un total de 54.988 SNPs informativos con una tasa de genotipado superior al 99%.

Modelo estadístico: El análisis de asociación (GWAS) se realizó con la nueva versión del programa *Qxpack5* (Perez-Enciso y Misztal, 2004). Todos los fenotipos fueron analizados bajo dos modelos, considerando efectos aditivos (**MII**) y la relación entre estos y los efectos dominantes (**MIIad**).

$$\text{MII: } y_{ijk} = \text{Sex}_i + \text{Batch}_{k+} + c_i + a_i + \mu_i + e_{ijk}$$

$$\text{MIIad: } y_{ijk} = \text{Sex}_i + \text{Batch}_{k+} + c_i + a_i + d_i + \mu_i + e_{ijk}$$

donde:

y_i : corresponde al fenotipo

Sex_i : sexo del individuo i (definido como efecto fijo)

Batch_i : Lote del individuo i (definido como efecto fijo)

c_i : covariables

a_i : efecto aditivo del SNP

d_i : efectos dominantes del SNP

μ_i : efecto infinitesimal que se distribuye como $N(0, \mathbf{A}\sigma_u^2)$

A: numerador de la matriz de parentesco.
 σ^2_u : varianza genética
 e: residuo

Los p-values obtenidos fueron corregidos utilizando la librería de R *q-value* (Storey et al., 2004) considerando significativos aquellos SNPs que mostraran un FDR < 0.05.

En la gran mayoría de fenotipos analizados se utilizó como covariable el peso de la canal salvo para las medidas de peso vivo a diferentes edades y el peso vivo al sacrificio que fueron corregidos por las correspondientes edades.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Nuestro primer objetivo fue analizar los genotipos obtenidos con el *Porcine SNP60 BeadChip* en tres cruces experimentales del material IBCMAP (BC, F₃, BC1_LD) para confirmar la segregación de QTLs descritos previamente en el cruce IBCMAP. La Tabla 1 muestra los QTLs validados en nuestro estudio. Para el total de animales genotipados con el chip de SNPs se confirmó la segregación del QTL del SSC4 para la longitud de la canal. Sin embargo, para el resto de fenotipos relacionados con composición e índices metabólicos de ácidos grasos sólo se valida la segregación de algunos QTLs en el retrocruce BC1_LD. Este resultado sugiere diferencias entre las madres fundadoras de los tres cruces analizados en frecuencias alélicas de los SNPs y QTLs de estos caracteres fenotípicos.

El disponer de una mayor densidad de marcadores distribuidos a lo largo del genoma porcino permitió identificar nuevos QTLs en regiones genómicas poco cubiertas en los análisis anteriores con microsatélites. Para disminuir el número de falsas asociaciones consideramos solo las regiones candidatas estadísticamente significativas (q-value < 0.05) que contenían dos o más SNPs próximos. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los modelos propuestos lo que sugiere una naturaleza aditiva para estos caracteres. Para la mayoría de los caracteres estudiados se observan diversos QTLs en diferentes posiciones del genoma (Tabla 2). El análisis clásico de QTLs corrobora en general la identificación de estos QTLs (Fernández, 2011). Este resultado puede ser de especial interés para futuros estudios que permitan incluir estas nuevas asociaciones en modelos más complejos que los presentados en este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Clop et al. 2003. *Mamm. Genome* 14(9): 650-6.
- Fernández et al. 2011. XIV Jornadas sobre Producción animal, Zaragoza 17-18 Mayo.
- Ledur et al. 2010. *Heredity* 105(2): 173-82.
- Mercadé et al. 2005. *Mamm. Genome* 16(5): 374-382.
- Perez-Enciso et al. 2000. *J. Anim. Sci.* 78(10): 2525-31.
- Perez-Enciso, M. & Misztal, I. 2004. *Bioinformatics* 20(16): 2792-8.
- Purcell et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81(3): 559-75.
- Storey et al. 2004. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 66: 187-205.
- Varona et al. 2002. *Genet. Res.* 80(2): 145-54.

Tabla 1. QTLs previamente descritos que se confirman en el GWAS

Fenotipo	Abreviatura	Crom.	Referencia	Material Animal
Longitud Canal	LC	4	Varona, L. et al., 2002 Clop, A. et al., 2003	F3, BC, BC1_LD
		17	Mercadé, A et al., 2005 Varona, L. et al., 2002	F3, BC, BC1_LD
% Ácido Palmítico	C16:0	8	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
% Ácido Palmitoleico	C16:1 (n-7)	8	Clop, A. et al., 2003 Perez-Enciso, M. et al., 2000	BC1_LD
% Ácido Linoleico	C18:2(n-6)	4	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
Longitud media de cadena de carbono	ACL	8	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD
Índice de doble enlaces	DBI	4	Clop, A. et al., 2003	BC1_LD

Tabla 2. Nuevos QTLs identificados en el GWAS.

Calidad canal	N	Media	Crom.	Material Animal
Longitud Canal (cm)	265	82.03	1, 16	F3, BC, BC1_LD
Peso Ambos Jamones (Kg)	265	21.57	1,10, 12	F3, BC, BC1_LD
Chuletas (Kg)	265	7.28	4,9, 11	F3, BC, BC1_LD
Crecimiento				
Peso vivo 125 días (Kg)	260	57.88	1, 13, 16	F3, BC, BC1_LD
Peso vivo 155 días (Kg)	260	62.55	13, 14, X	F3, BC, BC1_LD
Peso vivo 180 días (Kg)	260	99.61	2, 13, X	F3, BC, BC1_LD
Composición A. Grasos				
C14:0	144	1.18	5, 17	BC1_LD
C16:0	144	22.65	1,2,15, 17,18	BC1_LD
C16:1(n-7)	144	2.48	4, 6	BC1_LD
C18:1(n-9)	144	40.29	6,11	BC1_LD
C18:2(n-6)	144	10.27	1, 6, 14	BC1_LD
C20:0	144	0.25	16	BC1_LD
Índices metabólicos A.G				
SFA	144	38.49	1, 8, 13	BC1_LD
UI	144	2.04	1, 8, 13,14	BC1_LD
DBI	144	0.79	13	BC1_LD
MUFA	144	48.19	1,4, 6, 11	BC1_LD
PUFA	144	13.20	1, 4	BC1_LD
PUFA/SFA	144	0.35	1, 4,13,14	BC1_LD
MUFA/SFA	144	1.25	1, 4, 6, 11	BC1_LD

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto MICINN AGL2008-04818-C03/GAN y por el Programa de Innovación Consolider-Ingenio 2010 (CSD2007-00036 “Centro de Investigación en Agrigenómica”). Yulixaxis Ramayo Caldas es becario del programa de Formación de Personal Universitario (AP2008-01450). Agradecemos además al Dr. Martien Groenen (Wageningen, NL) por la anotación de los SNPs en el Assembly10 así como al Dr. Jordi Estelle y al MSc Yang Bin por su valiosa colaboración.

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY ON GROWTH, CARCASS AND MEAT QUALITY IN AN IBERIAN x LANDRACE CROSS

A genome-wide association study (GWAS) on growth, carcass and meat quality was performed in 279 animals from an Iberian x Landrace cross (IBMAP). In this study we analyzed a total of 41 traits, 14 for grow and carcass quality and 27 for fatty acid composition and index of fatty acid metabolism. All 279 animals were genotyped with the Porcine SNP60 BeadChip, after quality control we obtained a total of 54,988 informative SNPs; the GWAS was performed using the last version of Qxpak software. The main goal of this study was to test the segregation of previously reported QTLs using the whole-genome SNP genotypes in three experimental crosses (56 F3, 79 BC and 144 BC1_LD) and also to detect new regions and candidate genes. The segregation of some of the previously reported QTLs was validated mainly in pig chromosomes 4 and 8 and we also reported new interesting candidate regions.

Keywords: pig, GWAS, QTL, growth, meat quality, Iberian.

DETECCIÓN CLÁSICA DE QTL UTILIZANDO NUEVAS HERRAMIENTAS GENÓMICAS

Fernández, A. I., Alves, E., Ramayo-Caldas, Y., Mercadé, A., Noguera, J.L., Silió, L., Folch, J.M. y Rodríguez, C.

Departamento Mejora Genética Animal. SGIT-INIA. Ctra. Coruña Km7.5 28040. (Madrid). E-mail: avila@inia.es

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la base genética que controla el crecimiento, deposición grasa, conformación y la calidad de la carne y grasa en el cerdo ayudarán en el diseño de estrategias de selección, que permitan incrementar el rendimiento y la calidad de sus productos. Durante las últimas décadas se han llevado a cabo numerosos estudios que han permitido la identificación de más de 2.000 QTL para este tipo de caracteres, sin embargo muy pocas han sido las mutaciones responsables (QTN) identificadas. El principal problema en la identificación de los QTN ha sido la amplitud de los intervalos de confianza de los QTL, en parte determinado por el limitado número de marcadores disponibles, lo que hace muy difícil la identificación del gen responsable y la mutación causal. Durante los últimos años se han desarrollado nuevas tecnologías en genética molecular que permiten aumentar el conocimiento del genoma y brindar nuevas herramientas útiles para la identificación de genes y mutaciones causales, como son la secuenciación masiva o los chips de genotipado masivo de mutaciones puntuales (SNPs). En la especie porcina, el desarrollo del "Porcine SNP60 Beadchip" permite el genotipado simultáneo de más de 60.000 SNPs (Ramos et al., 2009).

El objetivo del presente trabajo es la identificación de QTL para caracteres de crecimiento, deposición grasa y rendimiento en porcino, utilizando la información del genotipado masivo de SNPs en tres generaciones de un cruce experimental Ibérico x Landrace.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales, registros fenotípicos y genotipado: Para el estudio se han utilizado 303 animales pertenecientes a tres generaciones del cruce experimental Ibérico x Landrace (F3 y dos retrocruces), con registros de pesos, espesor de tocino dorsal, grasa intramuscular y rendimientos de jamones y paletas. Estos mismos animales fueron genotipados para 62.163 SNPs con el chip "Porcine SNP60 Beadchip" en la Unidad de Genética y Mejora de la UAB. Los datos genotípicos fueron filtrados utilizando los software GenomeStudio (Illumina) y PLINK (Purcell et al., 2007), eliminando aquellos SNPs que fallaron en el genotipado, presentaron más de un 10% de genotipos faltantes o que presentaron una frecuencia del alelo menos frecuente (MAF) inferior al 5%.

Selección de SNPs por cromosoma: Se realizó una selección de los SNPs siguiendo dos criterios, localización e informatividad. Los SNPs fueron ordenados siguiendo la anotación suministrada por el Dr. Martin Groenen (comunicación personal) de acuerdo a la última versión del genoma porcino Sscrofa10. Para el barrido genómico, se seleccionaron aquellos SNPs con un MAF en el material analizado superior a 0,15 y distribuidos de forma equidistante a lo largo de cada uno de los cromosomas.

Análisis estadísticos: La construcción de los mapas de ligamiento para cada cromosoma se realizó utilizando la opción "fixed" de la última versión del software CRIMAP v2.503. El barrido genómico se llevó a cabo utilizando el software Qxpack v.5-1 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004). Se empleó el siguiente modelo estadístico $Y = X\beta + Zu + c_a + e$.

Para considerar la realización de un test cada cM, a partir de los valores nominales de P obtenidos para cada carácter se calcularon los valores q (Storey et al., 2004) y se establecieron como significativos aquellos inferiores a una tasa de falso descubrimiento del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del mapa de ligamiento mostraron que existen errores en la asignación de las posiciones físicas de los SNPs, aún en la anotación disponible más reciente. Estos errores se han identificado por la estima de un número elevado de recombinantes entre marcadores supuestamente adyacentes. Como se muestra en la Figura 1 algunos errores corresponderían a SNPs puntuales erróneamente localizados, mientras que en otros casos se trata de bloques que abarcan varios SNPs. Destacar que en la mayoría de los casos analizados, es en el principio y final de los cromosomas donde se han detectado un mayor número de errores de localización.

SSC11				SSC10					
264	ASGA0050759	0.000	0.000	82.532	469	MAR20041458	0.000	0.000	339.677
265	DBKK0000434	0.003	0.273	82.532	470	MARC0072480	0.500	100.000	339.677
266	ASGA0050778	0.000	0.000	82.805	471	ALGA0103072	0.000	0.000	439.677
267	ASGA0092053	0.229	24.684	82.805	472	ASGA0090608	0.000	0.000	439.677
268	MARC0088610	0.190	20.013	107.489	473	ASGA0105194	0.424	62.536	439.677
269	MARC0105416	0.000	0.000	127.502	474	MAR20041458	0.000	0.000	502.213
270	ALGA0110858	0.070	7.093	127.502	475	MARC0070269	0.038	3.777	502.213
271	ALGA0062191	0.000	0.000	134.595	476	MARC0039968			505.991

Figura 1. Detalle de los mapas de ligamiento construidos con 490 SNPs para los cromosomas porcinos SSC11 y SSC10

Una vez construido los mapas de ligamiento de cada cromosoma, eliminando aquellos SNPs que muestran una localización errónea, se procedió a realizar el barrido genómico. En la Tabla 1 se muestran los primeros resultados obtenidos en los cromosomas SSC1, SSC10 y SSC11.

Tabla 1. QTL identificados en los cromosomas SSC1, SSC10 y SSC11 para espesor de tocino dorsal ajustado a 90kg (ETD90kg), grasa intramuscular (GRIN), Peso ajustado a 150 días (P150d), peso de jamones (PJamón, kg) y paletas (PPaleta, kg) asumiendo una tasa de falso descubrimiento FDR = 0,05.

Carácter	Media	Cromosoma	cM	Efecto aditivo	P-nominal	Valor q
ETD90kg	14,11 mm	SSC1	115	1,322 (0,372)	$0,55 \times 10^{-3}$	$0,20 \times 10^{-2}$
		SSC10	103	1,227 (0,354)	$0,73 \times 10^{-3}$	$0,25 \times 10^{-2}$
		SSC11	32	-1,368 (0,323)	$0,42 \times 10^{-4}$	$0,14 \times 10^{-2}$
GRIN	1,53 %	SSC1	44	-0,418 (0,122)	$0,74 \times 10^{-3}$	$0,21 \times 10^{-1}$
P150d	80,41 kg	SSC10	30	-5,008 (1,555)	$0,17 \times 10^{-3}$	$0,45 \times 10^{-1}$
PJamón	10,82 kg	SSC11	37	0,477 (0,139)	$0,74 \times 10^{-3}$	$0,30 \times 10^{-1}$
PPaleta	5,07 kg	SSC11	37	0,252 (0,066)	$0,18 \times 10^{-3}$	$0,22 \times 10^{-1}$

Un análisis preliminar de detección de QTL utilizando únicamente la información de localización de los SNPs del mapa físico, nos llevó a identificar “falsos QTL”. Un ejemplo notable es el de un QTL para pesos de jamones y paletas aparentemente identificado en el cromosoma SSC10. Su posición correspondía a una región comprendida por tres SNPs erróneamente mapeada. Los resultados del análisis basado en el mapa de ligamiento, del que se excluyeron estos SNPs, no confirmó dicho QTL, al menos en esa región del cromosoma (Figura 2). La determinación de la localización real de este grupo de marcadores permitiría verificar si esta región contiene verdaderamente genes que regulan estos caracteres. Sin embargo, no existe la suficiente potencia en nuestro diseño, como ocurre en otros estudios de este tipo, para contar con un número suficiente de meiosis

informativas que nos permita localizar estos marcadores de manera fiable. Esta dificultad se verá en gran medida superada en los próximos meses con la mejora del ensamblaje y anotación del genoma porcino.

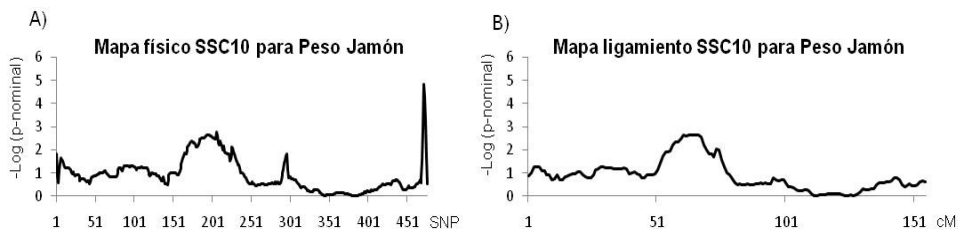


Figura 2. Perfiles de significación de la detección de QTL para el peso de los jamones utilizando la información del mapa físico (A) y de ligamiento (B) del cromosoma SSC10

Los barridos genómicos previos del material del cruce experimental IBCMAP se basaron en microsatélites distribuidos a lo largo del genoma (entre 3 y 7 por cromosoma), que permitieron identificar QTL para caracteres de crecimiento, deposición grasa, conformación y composición de ácidos grasos principalmente en los cromosomas SSC4, SSC6, SSC8, SSC12 y SSCX (Pérez-Enciso y Varona, 2000; Óvilo et al., 2000; Clop et al., 2002). Sin embargo este nuevo análisis con más de 400 SNPs por cromosoma ha permitido identificar nuevos QTL en cromosomas donde no se habían detectado estos efectos (ej. SSC1, SSC10 y SSC11), probablemente debido a la baja densidad de marcadores utilizado en los análisis anteriores. Varios de los QTLs detectados presentan efectos crípticos, de signo opuesto a lo esperado de acuerdo con las diferencias entre las líneas parentales. Análisis paralelos de *Genome-Wide Association* parecen corroborar estos resultados (Ramayo-Caldas et al., 2011).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Óvilo et al. 2000. *Mamm. Genome* 11: 344-346.
- Pérez-Enciso, M. & Varona, L. 2000. *Genetics* 155: 391-405.
- Pérez-Enciso et al. 2000. *J. Anim. Sci.* 78: 2525-2531.
- Purcell et al. 2007. *Am. J. Hum. Genet.* 81(3):559-7.
- Ramayo-Caldas et al. 2011. XIV Jornadas Sobre Producción Animal, Zaragoza 17-18 Mayo.
- Ramos et al. 2007. *Plos ONE* 4(8): 1-13.
- Storey et al. 2004. *J. R. Stat. Soc. Series B* 66: 187-205.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el proyecto MICINN AGL2008-04818-C03 y CSD2007-00036. Agradecemos la asistencia técnica de F García, MA López, R Benitez (INIA) y A Castelló (UAB). Y Ramayo-Caldas disfruta de una beca FPU.

CLASSIC QTL SCAN USING NEW GENOMIC TOOLS

ABSTRACT: Classic QTL scans have allowed to identify thousands of QTL for porcine economic important traits, despite the QTN identification has not been very successful. During the last years a great number of new genomic tools have been developed with the final aim of identifying the genetics variants regulating relevant traits. The aim of the present study was to carry out a new QTL scan for productive traits in the Iberian x Landrace experimental cross, using the genotyping information from the recently developed Porcine SNP60 Beadchip. First, linkage maps were built using the updated version of CRIMAP and the results showed mapping errors for several SNPs which should be taken into account in further analyses. A previous QTL scan with microsatellites allowed us to identify relevant QTL, however the new QTL scan carried out with high density marker maps in the present study has allowed us to identify new QTL in chromosomes poorly covered by the initial microsatellite scan, such as SSC1, SSC10 and SSC11.

Keywords: QTL scan, porcine, SNP chip.

GENÓMICA PARA CLASE TURISTA: UN EJEMPLO EN CERDO IBÉRICORodríguez, MC¹, Benítez, R., Alves, E., Fernández, Al., Ovilo, C.

García-Casco J, Silió, L. y Barragán, C.

¹Departamento de Mejora Genética Animal, INIA, Ctra. A Coruña km 7,5, 28040 Madrid

E-mail: valdo@inia.es

INTRODUCCIÓN

Las estrategias de mejora clásica han permitido obtener cambios importantes para caracteres productivos, pero moderados o pequeños para caracteres reproductivos y de calidad en cerdos. En las últimas décadas, uno de los objetivos principales en genética animal ha sido la identificación de los genes responsables de la variación de los caracteres de interés económico. En el genoma porcino se han descrito numerosos polimorfismos tipo SNP asociados con estos caracteres, pero la mayor parte de estas asociaciones no se ha confirmado en cerdo Ibérico, debido principalmente a que estos SNPs son monomórficos o poco informativos en esta raza (Pérez-Montarelo et al., 2010). Para superar esta dificultad, se ha investigado una opción alternativa, a partir de los resultados de detección de QTL en dos cruces experimentales de una línea de cerdos Ibéricos (IBMAP y MEIBMAP). En estos cruces se han identificado efectos importantes sobre caracteres de crecimiento, engrasamiento y calidad de carne y de grasa en diversas regiones cromosómicas (Pérez-Enciso et al., 2000; Ovilo et al., 2000; Varona et al., 2002; Muñoz et al., 2007).

A partir del *PorcineSNP60 BeadChip* (Ramos et al., 2009), se ha desarrollado un panel de 96 SNPs segregantes en cerdos Ibéricos y localizados en tres de las regiones de interés (en los cromosomas 4, 6 y 12). Esta herramienta se ha utilizado para verificar, en diversas poblaciones de cerdos Ibéricos, los efectos de estos SNPs sobre los caracteres de mayor interés económico que forman parte del objetivo del programa de selección de la Asociación de Criadores de Cerdos Ibéricos (Rodríguez et al., 2010). Los resultados presentados en esta comunicación proceden del estudio realizado en la línea Ibérica Torbiscal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Registros fenotípicos. Los registros analizados proceden de 183 cerdos castrados de la línea Torbiscal, hijos de 28 verracos y 66 cerdas y nacidos en dos parideras. Los animales fueron sometidos a manejo extensivo (alimentación restringida hasta los 280 días y engorde final en montanera) y sacrificados con una edad media de 392 días. Las canales se procesaron en un matadero comercial. Se tomaron muestras de lomo y grasa subcutánea para determinar, mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS), el contenido en grasa, proteína y humedad en el músculo, y el contenido de los ácidos grasos más importantes (C16: 0, palmítico; C18: 0, esteárico; C18: 1, oleico y C18: 2, linoléico) en la grasa subcutánea. La información utilizada en este trabajo se presenta en la Tabla 1

Tabla 1. Descripción de los registros analizados en los 183 animales disponibles.

	Media	SD		Media	SD
<i>Crecimiento</i>			<i>Calidad de carne (l. dorsi)</i>		
Peso a 280d, kg	100,48	12,56	Grasa intramuscular, %	7,93	2,39
ETD a 100kg, mm	28,60	4,39	Humedad, %	70,82	1,70
GMD, g/d	497,14	76,14	Proteína, %	20,73	0,71
Peso sacrificio, kg	157,25	16,05			
<i>Calidad canal</i>			<i>Calidad de grasa</i>		
Peso canal, kg	126,83	13,19	C16:0, %	21,39	1,13
Jamones, %	17,00	0,76	C18:0, %	10,59	0,95
Paletas, %	11,44	0,60	C18:1,%	51,25	1,99
Lomos,%	3,03	0,27	C18:2,%	11,13	0,71

Genotipado de SNP. Utilizando las 62.163 sondas del *Porcine SNP60 BeadChip* (Illumina, San Diego, CA, USA), se genotiparon muestras de ADN de 26 cerdos Ibéricos de diferentes orígenes. A partir de los genotipos obtenidos, se seleccionaron 85 SNPs con frecuencia

superior a 0.20 del alelo menos frecuente y localizados en alguna de las regiones a analizar: *FAT1* del SSC4, Receptor de Leptina (*LEPR*) en el SSC6 y Acetyl Coenzima-A Carboxilasa (*ACACA*) en SSC12. El panel se completó con otras 11 sondas, que corresponden a polimorfismos de los genes *LEPR* y *ACACA* (cinco y seis sondas, respectivamente) identificados por secuenciación en nuestro laboratorio. El panel final se utilizó para el genotipado de los animales con registros fenotípicos mediante *GoldenGate Genotyping Assay*. Todo el genotipado se realizó en el Servei Veterinari de Genètica Molecular (SVGGM) de la UAB.

Análisis estadísticos. Los efectos de los SNPs sobre los fenotipos se estimaron, utilizando el software Qxpack v.5-1 (Pérez-Enciso y Misztal, 2004), mediante un modelo animal en el que además de los efectos poligénicos se incluyeron como efectos fijos: la paridera, los efectos aditivo y dominante del SNP y como covariables, el peso de la canal para caracteres de calidad de canal y carne, y el crecimiento diario en la montanera para calidad de grasa. El nivel de significación se determinó utilizando una de las correcciones de Bonferroni, que corresponde a la probabilidad de elegir por azar un SNP como asociado al carácter (Lander & Kruglyak, 1995). Este umbral se determina como $P < 1 / \text{Número de SNPs informativos}$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Solamente fueron válidos los genotipos de 82 de los 96 SNPs incluidos en el panel. Debido al cambio de plataforma, nueve sondas no produjeron amplificación en ninguna de las muestras: seis en la región del SSC6 y tres en la del SSC12. Otras cinco resultaron monomórficas en la línea Torbiscal. Por tanto, el umbral de significación se estableció en $P < 0,012$. En las tres regiones cromosómicas analizadas se detectaron efectos significativos sobre diversos caracteres. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Cromosoma (SSC), sonda, frecuencia del alelo menor (MAF), razón de verosimilitud (LR), probabilidad nominal (P), efectos aditivo (a) y dominante (d) significativos.

Carácter	SSC	Sonda	MAF	LR	P	a (SE)	d (SE)
ETD, mm	6	MARC0025692	45,1	17,50	<0,001	1,41 (0,40)	1,78 (0,59)
Peso_Sac, kg	6	ASGA0029534	24,5	7,52	0,006	5,36 (1,94)	-
Peso_Canal, kg	6	MARC0046979	3,8	7,41	0,006	11,10 (4,06)	-
Jamones, %	12	ALGA0066396	36,6	9,55	0,008	0,24 (0,08)	0,20 (0,10)
Paletas, %	6	MARC0041774	44,8	10,00	0,007	0,13 (0,06)	0,17 (0,07)
Lomos, %	4	ALGA0025160	35,2	8,83	0,003	0,08 (0,03)	-
GRIN, %	12	AcPro6	20,3	8,72	0,003	1,02 (0,32)	-
Humedad, %	6	MARC0031617	41,5	9,04	0,003	0,57 (0,19)	-
Proteína, %	12	AcPro6	20,3	8,27	0,004	0,28 (0,10)	-
C16:0, %	6	MARC0046979	3,8	6,42	0,011	0,87 (0,32)	-
C18:0, %	4	ALGA0025158	43,7	6,97	0,008	0,26 (0,10)	-
C18:1, %	12	ASGA0054460	43,4	11,64	0,003	0,26 (0,19)	0,71 (0,23)
C18:2, %	4	ASGA0019783	9,3	10,87	0,004	0,56 (0,07)	0,51 (0,21)

En cuanto a caracteres incluidos en el objetivo de selección de AECERIBER, se han encontrado efectos significativos sobre porcentajes de jamones y paletas en las regiones cromosómicas próximas a los genes *ACACA* y *LEPR*, de magnitud comprendida entre 1,1 y 1,5% de la media del carácter. El efecto aditivo de la sonda ALGA0025160 (región *FAT1*) sobre el porcentaje de lomos equivale al 2,6% de la media. Asimismo se ha detectado un fuerte efecto aditivo sobre grasa intramuscular ($\approx 13\%$ de la media) de un SNP en el promotor 2 del gen *ACACA*, correspondiente a la sonda AcPro6. Por último, en las tres regiones cromosómicas se han detectado efectos sobre otros caracteres de interés aunque no incluidos en el citado objetivo de selección.

Estos resultados verifican parcialmente la presencia en la línea Torbiscal de QTL previamente detectados en cruces experimentales entre razas. Resultados análogos se han

obtenido en otras poblaciones de cerdo Ibérico, aunque por existir diferentes situaciones de desequilibrio de ligamiento, las sondas con efecto más significativo no son necesariamente coincidentes (Rodríguez et al., 2010). Con vistas a aumentar su utilidad, esta aproximación deberá extenderse en el futuro a regiones de otros cromosomas en las que se han detectado QTLs para estos caracteres (Fernández et al., 2011).

La evaluación genética de los caracteres de mayor interés en la selección de cerdo Ibérico (prolificidad, rendimiento en piezas nobles, calidad de carne) se basa principalmente en registros obtenidos en ascendientes. La utilización de tests genéticos permite la preselección temprana de reproductores entre los animales de las camadas de superior mérito genético estimado. Si bien el precio actual de los chips de alta densidad resulta prohibitivo en programas de selección modestos como el del cerdo Ibérico, el coste de un chip para el genotipado de un moderado número de SNPs puede ser asequible si una mejor estructura de la población permite repercutir el mayor coste en un gran número de animales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fernández et al., 2011. XIV Jornadas Sobre Producción Animal, Zaragoza 17-18 Mayo.
- Lander, E. & Kruglyak, L., 1995. *Nat. Genet.* 11: 241-247.
- Muñoz, G. et al., 2007. *Anim. Gen.* 38: 639-646.
- Óvilo, C. et al. 2000. *Mamm. Gen.* 11: 344-346.
- Pérez-Enciso, M. & Misztal, I., 2004. *Bioinformatics* 20: 2792-2798.
- Pérez-Montarelo, D. et al. 2010. XV Reunión Nacional de Mejora Genética Animal, Vigo 14-16 Junio.
- Pérez-Enciso, M. et al. 2000. *J. Anim. Sci.* 78: 2525-2531.
- Ramos, A. et al. 2007. *Plos ONE.* 4(8): 1-13.
- Rodríguez, C. et al. 2010. 7º Congreso Internacional de Cerdo Mediterráneo, Córdoba 14-16 Octubre.
- Varona, L. et al., 2002. *Genet. Res.* 80:145-154.

Agradecimientos: Trabajo financiado por el Proyecto AGL2007-65563. Agradecemos la colaboración de E de Pedro (UCO), y del personal del CIA 'Dehesón del Encinar', así como la asistencia técnica de MA López, F García, J Salces, Y Nuñez (INIA) y A Mercadé (UAB).

LOW-COST GENOMICS: AN EXAMPLE IN IBERIAN PIGS

ABSTRACT: During last decades, the identification of genes controlling productive traits has been a major goal in animal breeding. Recent availability of a high number of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and genotyping platforms has allowed the identification of polymorphisms associated with growth, fatness, meat quality, disease resistance and prolificacy in pigs. However, most of these associations have not been probed in Iberian pigs, mainly because most of the polymorphisms are fixed or at low frequency in this breed. In this work a panel of 96 informative SNPs has been tested for association with growth, carcass, meat and fat quality traits in Iberian pigs from the Torbiscal strain. The panel was selected from the PorcineSNP60 BeadChip genotype information, taking into account the polymorphism level in Iberian breed and the location in the pig genome, in order to cover three economically interesting regions on chromosomes 4, 6 and 12. A total of 183 castrated male pigs were genotyped. Significant effects on the different traits were observed for several SNPs located in the three candidate regions. This approach could be useful for the identification of genetic markers and the design of valuable genetic tests to complement genetic evaluations for Iberian pig's selection.

Keywords: Iberian pig, genetic tests, selection

eQTL ASOCIADOS CON LA DEPOSICIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA GRASA EN EL MÚSCULO *GLUTEUS MEDIUS* PORCINO

Cánovas, A.¹, Pena, RN.², Gallardo, D.³, Amills, M.³ y Quintanilla, R.¹

¹IRTA. Genètica i Millora Animal. Av Rovira Roure, 191, 25198. Lleida.

²UdL. Departament de Producció Animal. Av Rovira Roure, 191, 25198. Lleida.

³UAB. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Bellaterra, 08193. Barcelona.
angela.canovas@irta.cat

INTRODUCCIÓN

En los últimos 20 años, ha habido importantes avances en el conocimiento de la base genética de caracteres relacionados con el metabolismo lipídico y la calidad de la carne en la especie porcina. El estudio del papel que juega la regulación génica en los procesos biológicos nos ofrece una nueva herramienta para profundizar en la comprensión de estos caracteres complejos (Tuggle et al., 2007).

Estudios realizados en la especie humana y en ratón (Wheeler et al., 2009; van Nas et al., 2010) indican que la expresión génica está modulada por múltiples *expression Quantitative Trait Loci* (eQTL) situados en *cis* y en *trans* (Cookson et al., 2009). En la especie porcina tan solo se han publicado un par de cartografiados parciales de eQTL para genes previamente seleccionados por su asociación con características del músculo (Ponsuksili et al., 2008; Wimmers et al., 2010).

El objetivo del presente trabajo es detectar asociaciones entre eQTL reguladores de los niveles de ARNm en el músculo *gluteus medius* porcino y caracteres relacionados con la deposición de grasa intramuscular y la calidad de la carne en una población Duroc.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material animal. El material animal utilizado en el presente estudio procede de una población de 350 individuos de una línea comercial Duroc con alto contenido en grasa intramuscular. Con el objetivo de maximizar la posibilidad de encontrar eQTL reguladores de la expresión de genes relacionados con el metabolismo lipídico, se seleccionaron dos grupos de animales (N = 52 y 53) con fenotipos divergentes para una combinación de caracteres relacionados con la deposición de grasa y los niveles plasmáticos de lípidos (Cánovas et al., 2010).

Datos de expresión y normalización. Los datos de expresión de 105 muestras de músculo *gluteus medius*, correspondientes a 53 y 52 animales de los grupos con alto y bajo nivel de deposición de grasa, se obtuvieron utilizando la herramienta *GeneChip Porcine Genome Arrays* (Affymetrix). La normalización de los datos se realizó con el algoritmo gcRMA (Wu y col., 2004).

Análisis de eQTL. Un total de 6139 sondas que superaban una variabilidad mínima en los niveles de expresión de las muestras analizadas fueron incluidas en el estudio de eQTL. La detección de eQTL se realizó usando un panel de 110 microsatélites (Gallardo et al., 2008) mediante el software *GridQTL* (<http://www.gridqtl.org.uk/>). El modelo común utilizado fue:

$$y_{ijk} = \mu + b_i + l_j + \sum_{sire=1}^5 \alpha_{sire} p_k(sire) + \theta_{ijk}$$

donde: y_{ijk} es el dato de expresión del individuo k ; b_i es el efecto del lote de engorde (4 niveles); l_j es el efecto de laboratorio j (2 niveles); α es el coeficiente de regresión (efecto medio de sustitución alélica); p_k es la probabilidad de que el individuo k herede un alelo determinado de su padre común. Para determinar los umbrales de significación a nivel genómico se utilizó la corrección de Bonferroni.

Análisis ontológico y rutas metabólicas afectadas. Se realizó un análisis ontológico y de rutas metabólicas afectadas para clasificar desde una perspectiva funcional los genes *cis* y *trans* regulados, utilizando el paquete de herramientas bioinformáticas DAVID (Huang et al., 2009; <http://david.abcc.ncifcrf.gov/>).

Concordancia posicional eQTL-QTL y estudio de la correlación expresión-fenotipo. Se realizó un estudio de concordancia posicional entre los eQTL reguladores de la expresión en músculo y los QTL previamente detectados para caracteres relacionados con la grasa

intramuscular y la calidad de la carne. También se calculó la correlación entre los niveles de expresión de los genes regulados y estos fenotipos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de eQTL permitió detectar 613 regiones significativamente (a nivel genómico) asociadas a la variación de la expresión génica en el músculo *gluteus medius*. Debido a la incompleta anotación del genoma porcino, únicamente 478 de los transcritos regulados por eQTL fueron mapeados, clasificándolos en 63 *cis*-eQTL (físicamente próximos al gen/transcrito diana) y 415 *trans*-eQTL (localizados lejos del gen/transcrito diana, normalmente en otro cromosoma). De los 478 eQTL, 127 estaban concentrados en 11 regiones genómicas (eQTL *hotspots*; Tabla 1) que parecen regular los niveles de expresión de un importante número de genes, varios de ellos funcionalmente relacionados con el metabolismo lipídico y la deposición de las grasas.

Tabla 1. Número y lista de genes regulados por las 11 regiones eQTL hotspot.

Posición (cM)	Genes regulados	Lista de genes regulados	QTL concordantes ¹
SSC1 (10)	11	ARPC1A, CBPG , CKS2, CLDND1, CXXC5, G3BP1, IGFBP5 , MYO6 , RBM25, THOC1, WDR70	AG ; Color (L*); HDL_sérico
SSC2 (122)	7	ACOT6 , EHD1 , UFD1L, SEC22B, FUCA1, ZNF236, C10orf28	--
SSC3 (24)	16	PPP1CB , LCMT1, MEPCE, WASL, CPEB4, TANK, EDEM3, RRM2B , RDX, KCNMB3, KDELR2, THUMPD1, CASD1, PLOD1, TRPM7, EMSP1	GIM ; AG ; Col_sérico;
SSC3 (30)	14	EHD1 , IGF1 , TRIB2, NNAT, VCP1P1, BDKRB1, GUSB, RBM39, SAP30, GATAD2A, DUSP7, EBAG9, EMD, FAM20C	HDL_sérico; ETD; %Magro
SSC5 (114)	16	PRKAG2, TRPM7, LYRM2, ALDH1L2, EIF3A, MCFD2, HNRNPH1, PRKAA2 , HIGD1A, AGRP, ISOC2, PSMC6, PRPF39, CYCS, THUMPD1	AG ;
SSC5 (124)	13	SLC5A1, TMEM44, CUL1, NGAP, APOBEC1 , NRXN1, HSD11B1, SF3B1, HMGB2, HRAS, MRPS18C, PFMK, TAF1D	ETD
SSC6 (66)	10	LRP6 , PAFAH1B3, GARS, KIAA1217, DR1, MTSS1, ARF3, LOC6, SIGLEC10, TM2D2	AG ;
SSC6 (124)	9	CEBPG , HRC, FST, MED10, TRIM44, RBM12B, HDGF2, SS18, CAST	AG ; %Magro
SSC7 (134)	14	ACACA , FABP5 , CKAP4, PDE7A, NADK, BAG3, PUS1, ACLY , SLC5A6, ZAN, CNKSR3, CLDN9, GPR160, PTPLB	GIM ; Color(L*); ETD; %Magro
SSC12 (88)	13	TAOK1, COL1A1, TMEM98, TRIP11, IGFBP6 , PAFAH1B3, C20orf79, OBFC1, CCDC39, TRIM27, FAM98C, CUX1, IL18BP	AG ; Color(a*)
SSC18 (40)	4	CYP24A1 , DNAJB6 , HOXA10 , TPPP3	AG (AGS); CE

¹ AG=perfil ácidos grasos; AGS: ácidos graso saturados; CE: Conductividad eléctrica; Col=contenido de colesterol; ETD=espesor tocino dorsal; GIM=contenido grasa intramuscular; HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad.

El análisis de ontología génica (resultados no mostrados en tablas) de los genes regulados por los eQTL reveló una sobrerepresentación de términos GO relacionados con el metabolismo lipídico en general, y en particular con la síntesis y oxidación de los ácidos grasos, la actividad acetil-CoA carboxilasa, y el metabolismo de la glucosa, todas ellas funciones a su vez asociadas a los caracteres bajo estudio. El análisis de rutas metabólicas (Tabla 2) permitió también identificar varios genes, regulados en *cis* o *trans*, que formaban parte de rutas bioquímicas relacionadas con el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

Paralelamente se realizó un análisis de concordancia posicional que evidenció 80 coincidencias entre los eQTL (66 *trans*-eQTL y 14 *cis*-eQTL) y QTL para caracteres de cantidad y composición de la grasa intramuscular identificados previamente en la misma población Duroc. Particularmente relevante se consideró la concordancia posicional con los eQTL *hotspots* (ver Tabla 1). Por su parte, las correlaciones (resultados no mostrados en tablas) evidenciaron algunas asociaciones significativas entre los niveles de expresión de los genes regulados por eQTL y los fenotipos estudiados, si bien en algunos casos esta asociación varió entre grupos de animales con perfiles divergentes para deposición de grasa

Tabla 2. Rutas metabólicas significativamente sobrerrepresentadas en la lista de los genes *cis* y *trans* regulados por los 478 eQTL detectados.

KEGG pathway name	Genes	Genes (n)	p-value
Hypertrophic cardiomyopathy	LAMA2, ITGA6, ITGAV, PRKAG2, IGF1, PRKAA1, PRKAA2, TTN, TGFB2	9	0.002
Adipocytokine signaling pathway	ACSL1, PRKAG2, PRKAA1, ACACB, PRKAA2, AGRP, IRS1, ACSL5	8	0.003
Aldosterone-regulated sodium reabsorption	HSD11B1, IGF1, NEDD4L, ATP1A2, IRS1	5	0.027
Bladder cancer	HRAS, MMP9, MDM2, CDK4, MMP1	5	0.029
Endocytosis	STAMBP, HRAS, DNM1L, TGFB1, RAB22A, SH3KBP1, ADRBK2, MDM2, NEDD4L, ZFYVE20, EHD1	11	0.034
Insulin signaling pathway	HRAS, PPP1R3B, PRKAG2, ACACA, PRKAA1, ACACB, PRKAA2, PPP1CB, IRS1	9	0.036
PPAR signaling pathway	ACSL1, SCD, MMP1, FABP5, ACOX3, ACSL5	6	0.044
Focal adhesion	LAMA2, CAV2, HRAS, ITGA6, PDGFA, TNC, ITGAV, IGF1, COL1A1, PPP1CB, PARVB	11	0.056
Cell cycle	YWHAZ, MAD2L1, CDC23, MDM2, CDK7, CDK4, CUL1, TGFB2	8	0.061
Pathways in cancer	HRAS, PDGFA, MMP9, TGFB1, IGF1, CDK4, MMP1, TGFB2, LAMA2, CCDC6, ITGA6, ITGAV, MDM2, TPR, GSTP1	15	0.076
TGF-beta signaling pathway	TGFB1, FST, ID4, BMP1B, CUL1, TGFB2	6	0.097

La combinación de los resultados anteriormente descritos permitió elaborar una lista de genes cuyos niveles de expresión y los eQTL-reguladores de los mismos podrían estar particularmente relacionados con la variación en caracteres relacionados con la deposición y la composición de la grasa muscular en la población Duroc analizada.

Agradecimientos: Proyectos financiados por el MICIIN (GEN2003-20658-C05-05 y AGL2007-66707-C02-01). Agradecemos a Dr. James M. Reecy (Iowa State University, USA), Dr. Juan F. Medrano y Dr. Gonzalo Rincón (University of California-Davis) su ayuda en la realización de los análisis estadísticos y David Almuzara su apoyo técnico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Cánovas et al. 2010. BMC Genomics 11:372-315 • Cookson et al. 2009. Nat. Rev. Genet. 10:184-94 • Gallardo et al. 2008. Anim. Genet. 39:205-6 • Huang et al. 2009. Acta Neurol. Taiwan 18:287-295 • Ponsuksili et al. 2008. BMC Genomics 9:367 • Tuggle et al. 2007. Int. J. Biol. Sci. 3:132 • van Nas et al. 2010. Genetics 185:1059 • Wheeler et al. 2009. PLoS Genet. 5:685 • Wimmers et al. 2010. Funct. Genom. 9:251-8 • Wu et al. 2004. Am. Stat. Asso. 99:909.

eQTL FOR LIPID STORAGE AND COMPOSITION IN THE *GLUTEUS MEDIUS* MUSCLE OF DUROC PIGS

In the present study, results from a genome-wide eQTL scan in the pig *gluteus medius* muscle of a Duroc population have been further analysed in order to detect associations to lipid metabolism and meat quality traits variation. The functional classifications revealed that lipid-related GO terms and pathways were amongst the most enriched in the list of eQTL-regulated genes. Subsequently, a positional concordance study between eQTL and QTL linkage maps, and a correlation analysis between phenotypes and expression levels have been carried out. These studies allowed us identifying genes whose expression levels and eQTL-regulators are expected to be directly related to the studied phenotypes. These results represent a first step towards understanding how gene networks and molecular mechanisms involved in lipid metabolism influence variation of meat quality traits in our population.

Key words: genetical genomics, pork quality, lipid metabolism.

ESTUDIO DEL USO DE LOS MARCADORES GENÉTICOS EN UN PROGRAMA DE MEJORA GENÉTICA DE *NELORE* A TRAVÉS DE COMPARACIÓN DE MODELOS PARA LA CIRCUNFERENCIA ESCROTAL.

Rezende¹, F.M., Ibáñez-Escriche, N., Ferraz, J.B.S., Eler, J.P., Silva, R.C.G. y Mattos, E.C.

¹ Universidad de Sao Paulo. Av. Duque de Caxias Norte N° 225. 13635-900 Pirassununga, Sao Paulo, Brazil. frezende@usp.br

INTRODUCCIÓN

El desarrollo reciente de los genotipados de nucleótidos polimórficos simples (SNP) de alta densidad ha incrementado el interés por la aplicación de la selección asistida por marcadores (MAS) a escala de todo el genoma, lo que ha sido denominado selección genómica (Meuwissen et al., 2001). Sin embargo, su aplicación práctica permanece básicamente limitada a el vacuno de leche. Además, no hay todavía un consenso sobre cuál es la metodología o estrategia más adecuada a aplicar (Van Raden et al., 2008; González-Recio et al., 2008; Legarra et al., 2009). En el ganado Cebú, particularmente en la raza *Nelore*, los estudios sobre la aplicación de los marcadores genéticos se han centrado en investigar las asociaciones entre los polimorfismos individuales y caracteres cuantitativos (Ferraz et al., 2009; Pinto et al., 2010). Hasta donde sabemos, no existen trabajos científicos donde se estudie el uso de la MAS para estimar los valores genómicos con marcadores SNP en un programa de mejora genética en *Nelore*. El objetivo de este estudio es realizar una primera evaluación de la aplicación de la MAS en un programa de mejora genética de ganado de carne *Nelore*. Para llevar a cabo este objetivo se analizaron y compararon diferentes modelos de evaluación genética para el carácter circunferencia escrotal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Datos. Los datos de este estudio pertenecen a la compañía brasileña de mejora genética de vacuno de carne Agro-Pecuaria CFM Ltda. El carácter analizado fue la circunferencia escrotal (CE), medida a los 18 meses de edad. Previo a los análisis, los datos individuales de CE fueron corregidos por los efectos sistemáticos, del grupo genético aditivo, materno y del ambiente permanente. Dichos efectos, fueron estimados con el programa VCE versión 6.0 (Groenevelt, 2008) ajustando un modelo cuatrivariante y usando la base de datos completa de este rebaño, compuesta por un pedigrí de 235.766 animales y 62.275 animales con medida de CE.

Datos genotípicos. Los genotipos utilizados correspondieron a un panel de 220 marcadores *SNP*. Las frecuencias alélicas y genotípicas de cada marcador fueron estimadas por simple conteo, usando la función *PROC FREQ* del *SAS*. Aquellos marcadores *SNP* con una frecuencia alélica menor de 5% fueron eliminados de la base de datos. Como resultado, un total de 106 marcadores *SNP* fueron usados en los análisis.

Modelos estadísticos. Tres modelos mixtos fueron usados para predecir los efectos genéticos y de los marcadores. Modelo 1, donde solamente se consideraron los efectos genéticos aditivos: $y = \mu + Za + e$; modelo 2, donde solamente se consideraron los efectos de los marcadores: $y = \mu + Xb + e$; modelo 3, donde se incluyeron tanto los efectos de los marcadores como los efectos genéticos aditivos: $y = \mu + Xb + Za + e$. Donde, y es el vector del fenotipo corregido (1.088); μ es la media general; b es el vector de los efectos de sustitución alélica de los marcadores con dimensión 106×1 ; a es el vector de los efectos genéticos aditivos (7.976); X es la matriz de incidencia conocida de orden $n \times p$ ($n = 1.088$; $p = 106$), cuyos elementos fueron definidos como un modelo aditivo, correspondiendo los valores 1, 2 o 3 a los genotipos aa, Aa and AA, respectivamente; Z es la matriz de incidencia de los efectos genéticos aditivos de orden $n \times q$ ($n = 1.088$; $q = 7.976$); y e es el vector de los efectos residuales.

Análisis estadístico. Los datos fueron analizados con inferencia Bayesiana usando métodos *Markov chain Monte Carlo* (MCMC). El programa usado en los análisis fue el TM (Legarra, et al. 2008). Distribuciones a priori impropias fueron asumidas para los parámetros de dispersión y los efectos de los marcadores, mientras que para los efectos genéticos aditivos y residuales se asumieron distribuciones normales $N(0, A\sigma_a^2)$ y $N(0, I\sigma_e^2)$, donde A

es la matriz de relaciones de parentesco y σ_a^2 y σ_e^2 son, respectivamente, las varianzas aditiva y residual.

Comparación de modelos. Para la selección de los modelos se usaron dos criterios diferentes: *Deviance Information Criteria* (DIC) y validación cruzada *k*-veces. El DIC comparó la calidad global los modelo, teniendo en cuenta la complejidad de ellos (Spiegelhalter et al., 2002). Modelos con un menor DIC indican un ajuste global mejor, teniendo en cuenta su complejidad.

Dos estrategias distintas de validación cruzada *k*-veces se usaron para evaluar los modelos en base a su habilidad predictiva de los “datos futuros”: 1) validación cruzada 4-veces, donde la base de datos fue dividida aleatoriamente en cuatro subconjuntos distintos, cada uno conteniendo alrededor de un cuarto de los datos. En la validación cruzada, se utilizaron tres de los cuatro subconjuntos para el ajuste y estimación de los parámetros del modelo (muestra de ajuste) y la muestra de datos restante (muestra de validación) se usó para testar la habilidad predictiva del modelo; 2) validación cruzada 1-vez, la muestra de validación se compuso por los animales más jóvenes, con un total de 103 animales, los cuales representaron cerca del 10% de la base de datos.

La habilidad predictiva de los modelos fue evaluada por dos parámetros: el error cuadrático medio (MSE) y la correlación de *Pearson* (PC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias posteriores de las heredabilidades (desviaciones estándar) de CE para los modelos 1 y 3 fueron 0.46 (0.09) and 0.47 (0.09), respectivamente, lo que está de acuerdo con los valores descritos por Van Melis et al. (2010; 0.42) en una muestra de mayor tamaño de la misma población de *Nelore*.

Las estimas obtenidas para el DIC fueron 1556.21, 1206.74 y 1624.04 para los modelos 1, 2 y 3, en este orden. El modelo 2, el cual incluyó solamente los efectos de los marcadores, presentó el mejor ajuste global, tal como indica su menor DIC.

La Tablas 1 y 2 muestran los resultados del MSE y la PC para los análisis de las validaciones cruzadas 4-veces y 1-vez, respectivamente. Para este panel de marcadores, los dos criterios (MSE y PC) utilizados para evaluar la capacidad predictiva presentaron el mismo patrón de resultados. El modelo 1, donde solamente se consideraron los efectos genéticos aditivos, se reveló como el modelo preferido, ya que mostró el menor valor de MSE y el mayor valor de PC para todas las validaciones cruzadas y todos subconjuntos analizados.

Los resultados obtenidos por los dos criterios de comparación de modelos fueron divergentes. El modelo 2, que sólo incluyó los efectos de los marcadores, fue el peor modelo evaluado en términos de la capacidad de predicción y el mejor modelo en términos del ajuste global (DIC). No obstante, teniendo en cuenta que el objetivo de un programa de mejora genética es predecir el rendimiento de la siguiente generación, el modelo 1 fue el mejor modelo para los dos parámetros usados en la validación cruzada MSE y PC. En conclusión, para este conjunto de marcadores y esta población, no es evidente la ventaja de incluir los efectos de los marcadores en la evaluación genética de ganado *Nelore* para CE. Por otra parte, la metodología estadística aplicada puede haber influido en los resultados. Dado que la estimación de muchos efectos con pocos datos por medio de la metodología de mínimos cuadrados puede conducir a una reducción de la correlación entre los valores observados y predichos con la disminución del número de datos (Meuwissen et al., 2001). Por tanto, son necesarios otros estudios incluyendo la aplicación de métodos de penalización (es decir, GS-BLUP, Bayes A, B, C y Bayesian Lasso), que evitan parte de ese problema.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ferraz, J.B.S., Pinto, L.F.B., Meirelles, F.V., Eler, J.P., Rezende, F.M. et al. 2009. Genet. Mol. Res. 8 (4):1360-1366.
- González-Recio, O., Gianola, D., Long, N., Weigel, K.A., Rosa, G.J.M. et al. 2008. Genetics 178:2305–2313.
- Groeneveld, E., Kovac, M. & Mielenz, M. 2008. VCE, Institute of Farm Animal Genetics, Germany.
- Legarra, A., Aguilar, L. & Misztal, I. 2009. J. Dairy Sci. 92:4656–4663.
- Legarra, A., Varona, L. & López de Maturana, E. 2008. <http://snp.toulouse.inra.fr/~alegarra>.
- Meuwissen, T.H.E., Hayes, B.J. & Goddard, M.E. 2001. Genetics 157:1819–1829.
- Pinto, L.F.B., Ferraz, J.B.S., Meirelles, F.V., Eler, J.P., Rezende, F.M. et al. 2010. Genet. Mol. Res. 9 (3):1431-1442.
- Spiegelhalter, D.J., Best, N.G., Carlin, B.P. & Van derLinde, A. 2002. J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol. 64:583–639.
- Van Melis, M.H., Oliveira, H.N., Eler, J.P., Ferraz, J.B.S., Casellas, J. & Varona, L. 2010. Genet. Mol. Res. 9 (1):176-187.
- VanRaden, P. M. 2008. J. Dairy Sci. 91:4414–4423.

Tabla 1. Estimaciones de los MSE y las PC de los modelos 1, 2, 3 para los subconjuntos 1, 2, 3, 4 por la validación cruzada 4-veces.

Subconjuntos	MSE			PC		
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
1	7.20	7.75	7.40	0.25	0.06	0.14
2	7.06	7.42	7.12	0.23	0.08	0.15
3	6.63	7.24	7.05	0.23	0.07	0.15
4	7.65	8.24	7.76	0.21	-0.02	0.08

Tabla 2. Estimaciones de los MSE y las PC de los modelos 1, 2, 3 por la validación cruzada 1-vez.

Criterio	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
MSE	5.53	7.09	6.81
PC	0.32	0.01	0.13

Study of using genetic markers on a Nellore breeding program for scrotal circumference by model comparison

ABSTRACT: Data of a commercial Nellore beef cattle selection program were used to evaluate MAS implementation on its breeding program by model comparison. The data file consisted of 1,088 records for scrotal circumference (SC) adjusted for systematic, maternal and dam permanent environmental effects. A set of 106 SNP markers was analyzed to estimate the genomic breeding value. A total of three models were used to evaluate the MAS implementation on this study. Model 1 included only polygenic effects, model 2 included only markers effects and model 3 included both polygenic and markers effects. Bayesian inference via Markov chain Monte Carlo methods, performed by TM program, was used to analyze the data. Two criteria were adopted for model comparison: deviance information criteria (DIC) and k-fold cross-validation. Two k-fold cross-validation strategies were applied: 4-fold and 1-fold cross-validation. The posterior means of heritability estimated for SC from models 1 and 3 were in agreement with the estimates reported in the literature. The estimates of the DIC indicated the highest credibility of model 2. However, model 2 was the worst evaluated model in terms of prediction ability. Considering the ability to predict the next generation performance, model 1 was the best model for both the MSE and PC criterions. Therefore, it was not clear the advantage of including marker effects on the Nellore genetic evaluation for SC. Nevertheless, further studies including the application of penalized methods (i.e. GS-BLUP, Bayes A, B, C and Bayesian Lasso) are needed in order to confirm these outcomes.

Keywords: MAS, SNP markers, Zebu cattle, cross-validation.

ESPECIFICIDAD DE PERFILES TRANSCRIPTÓMICOS PARA DIFERENTES TIPOS MUSCULARES EN BOVINO

Moreno-Sánchez, N¹., Carabaño, M. J., Rueda, J., Reverter, A., y Díaz, C.

¹INIA, Dpto. Mejora Genética Animal. Crta. de la Coruña km 7,2. 28040 Madrid, España
E-mail: natalia@inia.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los mayores desafíos en la mejora de razas cárnicas consiste en identificar genes clave capaces de provocar cambios concretos y deseables tanto en la cantidad como en la calidad de la carne (Chang, 2007). La mayoría de estudios cuantitativos y moleculares que investigan el componente genético de los caracteres de calidad de carne se basan principalmente en características medidas sobre *M. Longissimus* (Burrow et al., 2001). Asumir que la selección en base a un músculo resultará en la mejora de la calidad de carne en la canal en su conjunto puede tener efectos perniciosos, dependiendo de cómo los genes involucrados en la calidad de ese músculo se comporten en el resto de músculos que componen la canal. Algunos trabajos muestran los perfiles transcriptómicos de diferentes tipos de músculos en bovino, cerdo o ratón (Sudre et al., 2005; Moreno-Sánchez et al., 2010; Bai et al., 2003; Wu et al., 2003). En estos estudios, se encuentran diferencialmente expresados en distintos músculos genes que codifican proteínas estructurales y enzimas metabólicas; así como genes mitocondriales o factores de transcripción entre otros. Otros grupos de genes, como ligandos para receptores de señales o genes relacionados con la matriz extracelular, sólo se encuentran diferencialmente expresados en algunos de estos trabajos, y sugieren especificidades bien de especie bien de tipo de músculo. Independientemente de sus funciones, se han identificado cambios en conectividad (Moreno-Sánchez et al. 2010) entre genes dependiendo del tipo muscular con respecto al patrón de co-expresión obtenido a partir de información de un amplio número de condiciones experimentales por Reverter et al. (2006). Estos cambios de conectividad afectaban a genes relacionados principalmente con la capacidad contráctil o aspectos metabólicos.

El objetivo de este trabajo es estudiar desde la perspectiva integradora de la biología de sistemas la expresión diferencial entre dos tipos musculares distintos en bovino, para profundizar en el conocimiento de los mecanismos que median en estas diferencias fenotípicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos de partida son 207 genes diferencialmente expresados (113 sobreexpresados en el flexor y 94 en el psoas) en un experimento realizado con 40 microarrays, que comprenden dos tandas de 20 microarrays con diseños conectados. La primera tanda de 20 microarrays se utilizó en el estudio previo citado en la introducción (Moreno-Sánchez et al., 2010). En estos experimentos conectados se determinó la expresión diferencial entre dos músculos fenotípicamente distintos en terneros de la raza Avileña Negra Ibérica, los músculos fueron *Flexor digitorum* y *Psoas major*, que previamente habían sido caracterizados (Moreno-Sánchez et al., 2008) como un músculo oxidativo y otro mixto-glicolítico, respectivamente.

Partiendo de este conjunto de datos, se realizaron análisis de ontología y de enriquecimiento utilizando la "David database" (David.abcc.ncifcrf.gov) y el programa GOrilla (cbl-gorilla.cs.technion.ac.il), para explorar por un lado las principales funciones biológicas asociadas a los genes y por otro cuáles eran los términos de ontología/rutas más representados.

Con el objetivo de inferir los patrones de co-expresión entre los genes detectados se introdujo la lista en la base de datos de una red de co-expresión génica de bovino (Reverter et al., 2006), construida con experimentos que usaban la misma plataforma que la utilizada en este trabajo. Los genes sobre-regulados en un mismo músculo deberían presentar correlaciones positivas (ó nulas), mientras que la expresión entre músculos se espera que sea independiente o esté negativamente correlacionada. Los genes que no se comporten de

esta forma representan un cambio de conectividad en la presente comparación (psoas vs flexor) frente a las comparaciones utilizadas para construir la red.

Por último se exploraron los datos desde una perspectiva de biología de sistemas, utilizando el programa IPA (www.ingenuity.com) para situar los genes en su contexto biológico, de la manera más exhaustiva posible. El IPA integra información de otras bases de datos, proporciona las principales rutas, funciones biológicas y redes funcionales asociadas a los genes. El programa Founcoup (<http://founcoup.sbc.su.se>) se usó para predecir interactomas globales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los análisis de ontologías y enriquecimiento relacionan los genes sobre-expresados en el psoas, principalmente con procesos en los que interviene la glucosa, mientras que los grupos de genes sobre-expresados en el flexor están relacionados principalmente con la maquinaria ribosomal y las fibras musculares. Las diferencias de expresión entre estos dos tipos de músculos se centran principalmente en genes relacionados con el metabolismo, traducción y colágeno; y esta última parece ser una característica identificativa del flexor. De forma similar, el análisis de las rutas KEGG en las que median los genes diferencialmente expresados muestra glycolisis/gluconeogénesis, fosforilación oxidativa, metabolismo de fructosa y manosa o señalización de insulina del lado del psoas y adhesión de matriz celular o ribosoma del lado del flexor.

De la integración de la lista de genes en la red de co-expresión génica de Reverter et al. (2006) se obtuvo una matriz de más de 9.000 correlaciones en la que se podían identificar diferentes grupos de genes muy correlacionados (tanto positiva como negativamente) entre sí, dentro y entre músculo. Dichos grupos no eran atribuibles a una sola función biológica, sino que estaban constituidos por genes que median en numerosos y diferentes procesos. También se detectaron un número reducido de genes que no presentaban un patrón de correlación definido, sino que mostraban cierto grado de independencia. Los resultados más relevantes se centran en los cambios en conectividad que muestra la matriz. Los clusters de genes detectados que representan cambios en conectividad parecen contribuir al metabolismo oxidativo del músculo más glicolítico de la comparación (*Psoas*) y viceversa. Así, genes como TNNT1, MB o MEF2C pueden ser claves en la plasticidad muscular, y el incremento de su expresión en fibras musculares oxidativas o glicolíticas podría activar programas coordinados característicos de fibras alternativas. Estos resultados corroboran la idea de que las relaciones entre los genes no siempre son las mismas en los diferentes músculos (Moreno-Sánchez et al., 2010), los cambios detectados implican comportamientos diferentes de esos genes dependiendo del tipo de músculo. Queda establecer las implicaciones que puedan tener los cambios en conectividad en relación a las diferencias en calidad de carne entre ambos músculos.

Uno de los objetivos principales de la biología de sistemas es descifrar las redes de transcripción que gobiernan la expresión génica. En este experimento, se han encontrado un total de 7 reguladores transcripcionales diferencialmente expresados. Sorprendentemente, el interactoma generado a partir de ellos muestra como el gen CAPN1, que no está diferencialmente expresado y que ha sido asociado a la ternura en vacuno de carne (Casas et al., 2006) y/o contenido de grasa intramuscular en Japanese Black (Cheong et al., 2005), conecta los reguladores transcripcionales sobre-expresados en el flexor, lo que puede llevarnos al entendimiento de los mecanismos que expliquen la dureza del corte comercial del flexor, el morcillo. En estudio se ha encontrado que 9 de los genes analizados podrían estar involucrados en las diferencias encontradas en cuanto a caracteres de calidad (Díaz et al., 2006) relacionados con la grasa entre estos dos músculos, como perfil de ácidos grasos, grasa intramuscular o colesterol. Aunque de los genes relacionados con el consumo de ácidos grasos hay una mayor proporción que se sobre expresa en el flexor, los genes relacionados con procesos como biosíntesis o deposición de lípidos están similarmente representados en ambos músculos.

Los cambios en conectividad entre genes como consecuencia de los distintos tipos musculares parece que se confirman y afectan a un mayor número de funciones. A través del estudio funcional se han identificado genes que han sido previamente asociados a diferencias en calidad y que nos pueden permitir profundizar en las causas de las diferencias de calidad de carne entre músculos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bai, Q., McGillivray, C., da Costa, N., Dornan, S., Evans, G., Stear, M. J. & Chang, K.-C. 2003. BMC Genomics 4: 8 • Burrow, H. M., Moore, S. S., Johnston, D. J., Barendse, W. & Bindon, B. M. 2001. Aus. J. Exp. Agr. 41: 893-919 • Byrne, K. A., Wang, Y. H., Lehnert, S. A., Harper, G. S., McWilliam, S. M., Bruce, H. L. & Reverter, A. 2005. J. Anim. Sci. 83: 1-12 • Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G. Chase C. C., Johnson, Jr. D. D. & Smith, T. P. L. 2006. J. Anim. Sci. 84: 520-525 • Chang, K. C. 2007. Animal 1: 681-698 • Cheong, H. S., Yoon D.-H., Park, B. L., Lyounghyo Kim, L. H., Bae, J. S., Namgoong, S., Lee, H. W., Han, C. S., Kim, J. O., Cheong, I.-C. & Shin, H. D. 2008. BMC Genetics 9:3 • Díaz, C., Moreno-Sánchez, N., Moreno, A., Rueda, J. & Carabaño, M. J. 2006. En Proc. XVI Congreso de Zootecnia • Hwang, D., Rust, A. G., Ramsey, S., Smith, J. J., Leslie, D. M., Weston, A. D., de Atauri, P., Aitchison, J. D., Hood, L., Siegel, A. F. & Bolouri, H. 2005. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 17296-17301 • Lehnert, S. A., Byrne, K., Wang, Y.-H., Natrass, G. S., Hudson, N. J. & Greenwood, P. L. 2007. BMC Dev. Biol. 7:95 • Moreno-Sánchez, N., Díaz, C., Carabaño, M. J., Rueda, J. & Rivero, J. L. 2008. BMC Cell. Biol. 9: 67 • Moreno-Sánchez, N., Rueda, J., Carabaño, M. J., Reverter, A., McWilliam, S., González, C. & Díaz, C. 2010. Funct. Integr. Genomics 10: 609-618 • Sudre, K., Cassar-Malek, I., Listrat, A., Ueda, Y., Leroux, C., Jurie, C., Auffray, C., Renand, G., Martin, P. & Hocquette, J.-F. 2005. Meat Sci. 70: 267-277 • Wang, Y.-H., Byrne, K. A., Reverter, A., Harper, G. S., Taniguchi, M., McWilliam, S., Mannen, H., Oyama, K. & Lehnert, S. A. 2005. Mamm. Genome 16:3 201-210. • Wu, H., Gallardo, T., Olson, E. N., Williams, R. S. & Shohet, R. V. 2003. J. Muscle Res. Cell Motil. 24: 587-592.

Agradecimientos: a la Asociación de Avileña-Negra Ibérica y al Consejo Regulador de Carne de Ávila por su ayuda en la recogida de muestras. Este trabajo ha sido financiado por el RTA-2007-0081.

AN INSIGHT INTO THE TRANSCRIPTOMIC PROFILES OF DIFFERENT SKELETAL MUSCLE TYPES IN CATTLE

ABSTRACT: While phenotypic differences between skeletal muscles have been described, the differential gene expression underlying them is largely to be elucidated. The goal of this study was to gain insight into the different transcriptomic profiles of two muscle types in cattle, a glycolytic and an oxidative one. Differentially expressed genes were analysed from a system biology perspective and connectivity changes across the skeletal muscle system were detected. Our results confirm the existence of a muscle dependent transcription and coexpression pattern. We argue that genes representing changes in connectivity may play key roles in muscle plasticity.

Keywords: differential expression, system biology, co-expression network, myofibre type.

Calidad de los productos

EFFECTO DE LA ADICIÓN DE SEMILLA DE LINO Y GRASA CLA EN EL PIENSO DE TERNEROS FRISONES SOBRE LOS PARÁMETROS PRODUCTIVOS Y EL COLOR DE SU CARNE

Albertí, P.^{1.}, Ripoll, G.^{1.}, Panea, B.^{1.}, Barahona, M.^{2.}, Beriain, M.J.^{3.}, Sarries, V.³ y Realini C.E.^{4.}

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana, 930 50059 Zaragoza. palberti@aragon.es

² Facultad de Veterinaria, C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza.

³ E.T.S. Ingenieros Agrónomos Campus Arrosadía s/n, 31006 Pamplona

⁴ IRTA. Finca Camps i Armet, 17121 Monells.

INTRODUCCIÓN

La carne de vacuno se percibe por algunos consumidores como poco saludable por su elevado contenido de grasas saturadas. Se sabe que la grasa saturada aumenta el colesterol en la sangre y el riesgo de enfermedades cardiovasculares. A través de la dieta de cebo, existe la posibilidad de enriquecer el contenido de la carne con ácidos grasos poliinsaturados y así ajustar el perfil lipídico a las recomendaciones nutricionales. El objetivo de este trabajo fue utilizar piensos con semilla de lino rico en ácidos grasos *n*-3 y con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre los parámetros productivos y la calidad de la carne de terneros.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuarenta y ocho terneros frisonos fueron distribuidos en ocho lotes de seis animales. Los animales fueron alimentados con cuatro dietas con dos repeticiones cada una. Se probaron cuatro dietas: control (0% lino, 0% CLA), lino (10% lino, 0% CLA), CLA (0% lino, 2% CLA) y lino+CLA (10% lino y 2% CLA). El lino era semilla entera y el CLA eran isómeros del ácido graso C 18:2 con un contenido del 10% de *n*-6 que estaba protegido de la degradación ruminal (Lutrell ® pure). Las cuatro dietas eran isoenergéticas e isoproteicas y se formularon con una suplementación de 110 mg de vitamina E/kg de pienso. Se realizó el control mensual de la ingestión por lote y control del peso individual quincenal. El peso de sacrificio se estableció en 450 Kg de peso. Se realizaron cuatro sacrificios, con dos lotes de distinta dieta en cada uno, siendo los cuatro lotes primero y los otros cuatro de la repetición después. Tras el sacrificio se tomaron de la media canal derecha dos filetes de 3 cm de espesor (L3 y L4 aproximadamente) del músculo *Longissimus dorsi* para evaluar la evolución del color de la carne. Cada filete fue dividido en tres trozos y se distribuyeron en seis bandejas, por lote, para evaluar a las 24h y 48h, 5d, 7d, 9d 12d y 14d, de cada . En cada bandeja se depositaron 6 piezas de carne una de cada animal, se envasó en film permeable al oxígeno, y fue mantenida en oscuridad y a temperatura < 5° C. A cada tiempo se midió la claridad (L*) el índice de rojo (a*) y el índice de amarillo (b*) con un espectrocolorímetro Minolta 2600d, y se calcularon el croma ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$) y el tono ($h = \arctg(a^*/b^*) \times 57,29$).

Para el análisis de datos se utilizó el paquete estadístico SAS, mediante el procedimiento GLM para las variables productivas con un modelo factorial incluyendo dietas por repetición. Para valorar la evolución del color de la carne de las cuatro dietas y sus repeticiones en el tiempo se utilizó el procedimiento Mixed.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguno de los parámetros productivos fue afectado ($P > 0.05$) por el tipo de dieta o la repetición. La ganancia media diaria de peso fue elevada para este tipo de animales ya que fue mayor a 1,7 kg/d y superior al de 1,3 kg/d obtenido en frisonos cebados con dietas con aceites y jabones de palma (Partida et al., 2007). El rendimiento canal en torno a 52% fue menor que en el obtenido en el trabajo de Partida et al. (2005) que fue superior al 54%. La clasificación de conformación de O estuvo acorde a lo esperado para terneros livianos de

tipo lechero (Albertí et al., 1988). Tampoco se apreciaron diferencias en la clasificación de engrasamiento de la canal que estuvo entorno a 2+. El pH de 5,5 confirmó que los animales no sufrieron estrés previo al sacrificio, y asegura que ese factor no afectó la calidad de la carne. El índice de conversión del pienso de 5 muestra una buena eficiencia de conversión de estas dietas por este tipo de animales. Esta eficiencia y el elevado crecimiento de los terneros sugiere que puede superarse el 2% de semilla de lino (FEDNA, 2003) y llegar al 10% sin temor a los efectos negativos de los glúcidos cianogénicos que contienen.

Tabla 1. Parámetros productivos, clasificación de la canal y pH último de la carne (EE, error estándar promedio de las dietas)

	control	lino	CLA	lino+CLA	E.E.	dieta	sig
Peso inicial, kg	239,6	238,9	240,7	240,1	6,61		ns
Peso sacrificio, kg	450,5	460,4	454,5	468,8	9,79		ns
Gmd, kg/d	1,72	1,78	1,76	1,84	0,05		ns
Edad sacrificio, días	320,4	326,3	324,1	318,3	5,97		ns
Peso canal oreada, kg	233,9	237,8	237,2	249,5	5,82		ns
Rto. Canal o. %	51,9	51,65	52,2	53,2	0,38		ns
Conformación	O/O-	O	O/O-	O/O-	-		-
Nota conformación	4,2	4,9	4,4	4,8	0,26		ns
Engrasamiento	2+	2/2+	2+	2+	-		-
Nota engrasamiento	6,0	5,6	6,2	5,8	0,16		ns
pH 24 h	5,6	5,5	5,5	5,5	0,04		ns
Consumo pienso; kg	8,3	8,8	8,7	8,9	0,34		ns
IC, kg pienso/kg peso vivo	4,9	5,0	5,0	4,9	-		-

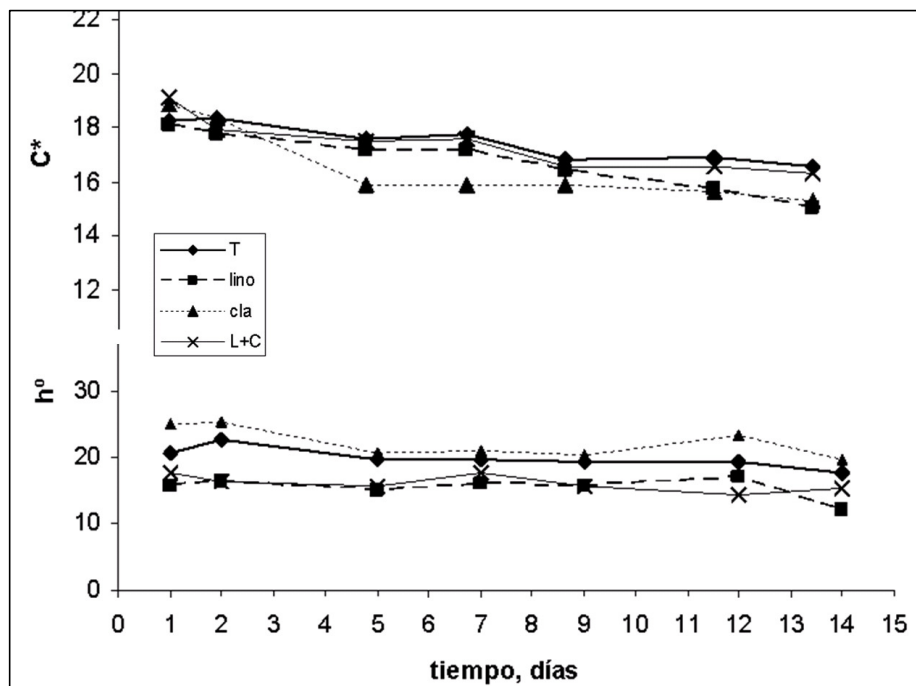


Figura 1. Evolución del cromático y el tono del color de la carne envasada en film.

La evolución del color de la carne en bandeja cubierta con film, desde un día después del fileteado (48 h después del sacrificio) hasta los 14 días de exposición, se presenta en la figura 1.

El efecto del tiempo o de la repetición fue más importante estadísticamente que el efecto de la dieta para las variables de color analizadas. Se dio una interacción entre dietas y repetición en el valor del tono ya que las dietas de lino y lino + CLA de la repetición dos tuvieron valores de tono de 9,2 mientras los valores de la repetición uno fueron superiores a 21,6.

No obstante, cabe destacar la elevada estabilidad del color de la carne ya que la disminución de valor de croma fue muy gradual en las cuatro dietas. Asimismo, el tono fue muy estable siguiendo evoluciones similares con el transcurso del tiempo en todas las carnes. Cuando la carne pierde su estabilidad de color el valor de croma disminuye rápidamente y el tono tiende a aumentar exponencialmente mostrando que el color se vuelve indeseable al observador (Albertí et al., 2005; Resconi, 2007). La ausencia de diferencias entre las dietas en la evolución del color y la elevada estabilidad del mismo durante la exposición, se debió en parte al enriquecimiento del pienso con 110 mg de vitamina E/kg pienso que previno los posibles problemas de oxidación lipídica asociados a la mayor insaturación de la grasa intramuscular de la carne.

Los resultados muestran que la adición de semilla de lino (10%), CLA (2%) y vitamina E en la dieta de terneros frisonos no afecta la producción animal ni la estabilidad del color de la carne. Se puede modificar favorablemente el perfil de ácidos grasos de la carne sin afectar su vida útil evaluada como estabilidad del color durante 14 días.

Agradecimientos: proyecto financiado por INIA RTA2009-00004 y fondos Feder.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí P., Sañudo C., Lahoz F., Jaime J., Tena T. 1988. ITEA 76, 3-14.
- Albertí P., Ripoll G., Casasús I., Blamco M., Chapullé J.L.G., Santamaría J. 2005. ITEA, 101: 91-100.
- FEDNA 2ª edición. Tablas FEDNA 2003. 423pp.
- Resconi V. 2007. Master IAMZ.
- Partida JA., Olleta J.L., Campo M.M., Sañudo C. 2005. ITEA extra 26, 786-788.
- Partida JA., Olleta J.L., Sañudo C., Albertí P., Campo M.M. 2007. Meat Sci. 76, 444-454.

EFFECT OF WHOLE LINSEED AND CLA ADDITON TO THE DIETC OF FRIESIAN YOUNG BULLS ON ANIMAL PERFORMANCE AND MEAT COLOUR STABILITY

ABSTRACT.

Forty-eight Friesian young bulls were fed 110 mg vitamin E/kg feed and 1 of 4 diets: control (0% linseed or CLA), linseed (10%), CLA (2%), and linseed+CLA (10+2%). Animal performance and carcass characteristics were not affected ($P>0.05$) by the addition of linseed, CLA or their combination in the diet. Meat colour stability evaluated during 14 days did not differ ($P>0.05$) among the four diets, possibly due to supplementation with high levels of vitamin E. Results indicate that inclusion of linseed and/or CLA in the diet of young bulls have not detrimental effects on animal performance or meat shelf life as determined by colour stability.

Keywords: *meat colour, shelf life, fatty acids.*

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON DIETAS ENRIQUECIDAS EN ÁCIDOS GRASOS N-3 Y EN CLA EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS CONJUGADOS DE LA CARNE DE TERNEROS FRISONES

Sarriés^{1*}, M.V., Mendizábal¹, J.A., Beriain¹, M. J., Insausti¹, K., Gómez¹, I., Sanz¹, M., Albertí², P., Purroy¹, A.

¹ETSIA. Universidad Pública de Navarra. Campus de Arrosadia, 31006 Pamplona.

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana, 930 50059 Zaragoza.

[*vsarries@unavarra.es](mailto:vsarries@unavarra.es)

INTRODUCCIÓN

El ácido linoleico conjugado (CLA) está constituido por una mezcla de isómeros geométricos y de posición del ácido linoleico (C18:2n6 c9,c12) con dobles enlaces conjugados. Se forma a través de la isomerización por bacterias del rumen del ácido linoleico y de la desaturación en el tejido adiposo por la enzima Δ^9 -desaturasa de otro producto de la biohidrogenación, el ácido *trans*-vaccénico (TVA) (C18:1t11) (Grinari y Bauman 1999). El contenido de la carne con CLA y TAV se puede enriquecer mediante el aumento de la disponibilidad del sustrato en la dieta animal, el ácido linoleico. El isómero principal del CLA es el ácido ruménico (9c,11t CLA) que puede poseer propiedades saludables (Rubino *et al.*, 2008) (Pariza *et al.*, 2001), presentando un 75% del CLA en la carne de vacuno (Chin *et al.*, 1992). Sin embargo, existen pocos estudios que hayan evaluado la adición de semilla de lino y grasa enriquecida en CLA en el pienso sobre la calidad de la carne de vacuno. El objetivo de este trabajo fue determinar la incorporación de ácidos grasos n-3 y CLA a la carne de terneros suplementados con piensos enriquecidos en estos ácidos grasos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha determinado el perfil de ácidos grasos conjugados de veinticuatro terneros frisonos enteros. Los animales fueron comprados con 100-110 kg de peso vivo y al alcanzar 150 kg, fueron alimentados con 4 dietas diferentes: control (0% lino, 0% CLA), lino (10% lino, 0% CLA), CLA (0% lino, 2% CLA) y lino+CLA (10% lino y 2% CLA). El sacrificio se realizó cuando los animales alcanzaron 450 kg de peso vivo (12- 13 meses de edad). Para el análisis del contenido en ácidos grasos se tomaron muestras del músculo *longissimus dorsi* a la altura de la 10ª vértebra torácica 24 horas después del sacrificio. Posteriormente, las muestras se congelaron a -20°C para su conservación hasta el momento del análisis. El método de extracción y mutilación de la grasa fue el descrito por Aldai *et al.* (2005). El perfil de ácidos grasos se analizó mediante cromatografía de gases con el equipo GC 7890 con splitless inlet y detector FID con una columna de 120 m y helio como gas portador. El estudio estadístico de los resultados se realizó con ayuda del paquete informático SPSS 17.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se muestran los porcentajes de los ácidos grasos en los piensos utilizados durante el cebo de los animales. En la tabla 2 se muestran los porcentajes de los ácidos grasos poliinsaturados más relevantes y el sumatorio de los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM), poliinsaturados (AGP) y CLA, determinados en la carne de los terneros alimentados con la dieta control, lino, CLA y lino con CLA. Se observa que el contenido en ácidos grasos de la familia n3 aumentó en los terneros que se alimentaron con piensos enriquecidos en lino y en lino con CLA. Sin embargo, dicho contenido se mantuvo igual en los terneros alimentados tanto con pienso control como con pienso enriquecido en CLA. En este sentido, las dietas que son suplementadas con lino y lino con CLA dan lugar a un menor ratio n6/n3, más próximo a las recomendaciones nutricionales, que en el caso de la dieta testigo (n6/n3<5, según la WHO, 2003). Mientras el contenido en AGP se mantuvo

similar en las dietas enriquecidas con ácido linoleico y/o CLA, el contenido en AGS fue menor en el lote lino con CLA ($p<0,001$) (aunque similar al de lino). La incorporación de lino con CLA en el pienso permite que la carne de ternera alcance una buena relación AGP/AGS (0,40) más próxima a la recomendada por la Agencia Nacional de la Salud del Reino Unido (UK Department of Health, 1994). El análisis de componentes principales (gráfico 1) pone de manifiesto las diferencias encontradas en el contenido de ácidos grasos de la carne de los cuatro lotes estudiados, en donde se observa que los terneros alimentados con lino y con la dieta lino con CLA se separan de los terneros alimentados con dieta control y CLA por poseer un mayor contenido en ácidos grasos TVA y 9c11t CLA (25.8% de la variabilidad) (Factor 3) y linoléico (25.9% de la variabilidad) (Factor 2). La carne de los terneros alimentados con pienso basado en lino con CLA tienen un mayor contenido en 9c11t CLA ($p<0,001$) y TVA ($p<0,001$), que podría estar relacionado con el papel que juega en el rumen la bacteria *Butyrivibrio fibrosolvens* en el proceso de biohidrogenación del C18:2n-6 al C18:0 generando 9c11t CLA que se deposita posteriormente en los tejidos (Kepler et al., 1966). Este alto contenido del 9c11tCLA podría deberse a la intervención de las enzimas reductasas de las bacterias del rumen que son capaces de reducir el 9c11t CLA en TVA, y una vez en los tejidos, por acción de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa (Griinari y Bauman 1999), es transformado en 9c11t CLA. Estos resultados concuerdan con los hallados por Warren et al, (2008) en donde el alto contenido de CLA y TVA en la carne de vacuno estuvo relacionado con el alto contenido de 18:2n6 y 18:3n3 procedente de la dieta. En definitiva, la inclusión de semillas de lino con CLA conjuntamente en la dieta ha supuesto un aumento del 9c11t CLA y del ácido linoléico en la carne y un menor ratio n6/n3.

Tabla 1. Porcentaje del perfil de ácidos grasos correspondientes a los piensos utilizados en la etapa de cebo de los animales.

	Control	Lino	CLA	Lino+CLA	EE	P-valor
C18:2n6c9c12	27,10 ^a	34,84 ^b	26,41 ^a	25,45 ^a	3,384	0,007
C18:3n3c9,c12,c15	2,03 ^a	22,24 ^b	1,91 ^a	23,47 ^b	2,253	<0,001
9c11tCLA	0,00 ^a	0,00 ^a	2,46 ^b	2,91 ^b	0,306	<0,001
AGS	42,54 ^a	21,70 ^b	42,01 ^a	29,25 ^b	5,041	<0,001
AGM	28,12 ^a	20,87 ^b	26,37 ^a	18,25 ^c	1,166	<0,001
AGP	29,15 ^a	57,24 ^b	28,35 ^a	49,07 ^b	4,610	<0,001

Tabla 2. Porcentaje del perfil de ácidos grasos correspondientes a la carne de los terneros frisonos.

	Control	LINO	CLA	LINO+CLA	EE	P-valor
C18:1t11 (TVA)	3,03 ^a	3,42 ^a	2,46 ^a	4,76 ^b	1,123	<0,001
C18:2n6c9c12	9,50	8,32	9,75	10,00	2,460	0,36
C18:3n3	0,27 ^a	1,84 ^b	0,29 ^a	2,04 ^b	0,293	<0,001
9c11tCLA	0,14 ^a	0,25 ^b	0,23 ^b	0,40 ^c	0,063	<0,001
Sumatorio CLA	0,13 ^a	0,17 ^{ab}	0,22 ^b	0,30 ^c	0,055	<0,001
AGS	48,56 ^c	44,88 ^{ab}	47,45 ^{ac}	43,58 ^b	2,363	<0,001
AGM	32,89	35,35	33,67	34,79	2,973	0,19
AGP	13,72	14,82	14,37	17,12	3,737	0,147
AGM/AGS	0,67 ^a	0,78 ^b	0,71 ^a	0,80 ^b	0,077	<0,001
AGP/AGS	0,28 ^a	0,33 ^a	0,30 ^{ab}	0,40 ^b	0,095	0,036
n6	13,08	12,25	13,66	14,25	3,402	0,529
n3	0,63 ^a	2,56 ^b	0,71 ^a	2,87 ^b	0,429	<0,001
n6/n3	20,48 ^c	4,73 ^a	18,99 ^b	5,01 ^a	1,190	<0,001

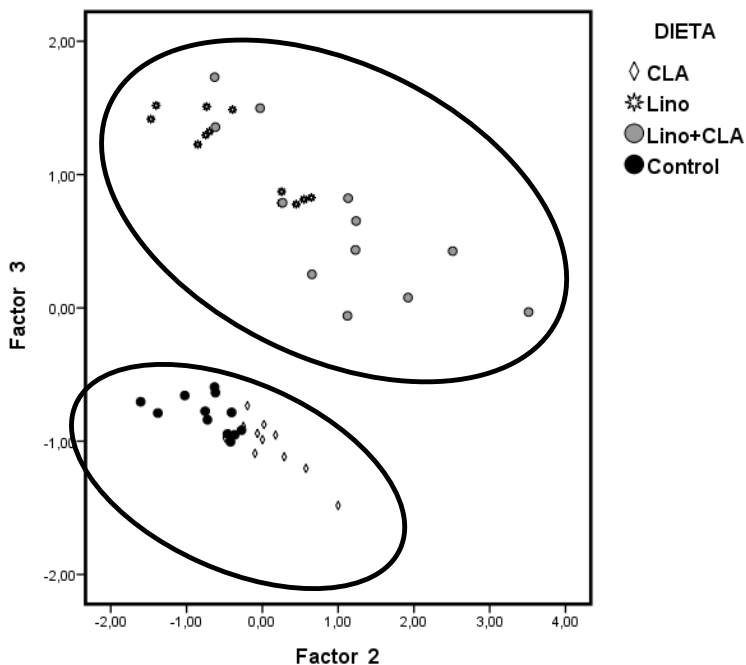


Figura 1. Análisis factorial de los ácidos grasos estudiados de las muestras distribuidas por las diferentes dietas.

AGRADECIMIENTOS. Proyecto financiado por INIA RTA2009-00004 y fondos Feder.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aldai, N. et al. (2005). *Food Agric*, 85 1073-1083, ●Chin, S.,F. et al.(1992). *Journal of Food Composition Analysis*, 5:185-187 ●Department of Health (1994). *Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. Report on Health and Social Subjects No 46*. London: H.M. Stationary Office. ●Griinari, J.M., and D.E. Bauman (1999), In M.P. Yurawecz M.M. Mossoba. J.K.G. ●Kepler, C. et al. (1966). *Journal of Biology and Chemistry* 241, 1350-1354. ●Pariza, M.W. et al (2001) *Progress in Lipid Research*, 40:283-298. ●Rubino, M. et al. (2008). *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting*, 49: 275. ●Warren et al, (2008) *Meat Science*, 78, 256-269. ●WHO (2003) Report of a joint WHO/FAO expert consultation, WHO technical report series 916, Geneva.

EFFECT OF THE SUPPLEMENTATION OF DIETS ENRICHED IN N-3 AND CLA FATTY ACIDS ON THE CONJUGATED FATTY ACID PROFILE OF MEAT FROM HOLSTEIN BEEF

ABSTRACT. There is a potential interest to improve the content of CLA in meat due to their healthy properties in the human species. Many studies have suggested that it is possible to increase the level of these fatty acids in beef when the animals are fed with diets enriched with linseed. In this study the inclusion of linseed and CLA in the diet has led to increase the level of 9c11tCLA and the linolenic acid and decrease the ratio of n6/n3 in meat.

Keywords: beef, fatty acis, CLA, linoleic, linolenic.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE SEMILLA DE LINO Y CLA EN LA DIETA SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE VACUNO.

Barahona, M.¹, Campo, M.M.¹, Olleta, J.L.¹, Sañudo, C.¹, Alberti, P.², Ripoll, G.² y Realini, C.E.³

¹Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza.

E-mail: martabm@unizar.es

CITA de Aragón. Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza.

³IRTA. Finca Camps i Armet, 17121 Monells.

INTRODUCCIÓN

El sistema de engorde de ganado de vacuno más utilizado en España se basa en dietas con un contenido elevado de concentrado y muy limitado de forrajes, lo cual produce una carne con una composición de ácidos grasos (AG) *n*-6 elevada. Un bajo cociente AG poliinsaturados/AG saturados está asociado con el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares, las cuales son la principal causa de mortalidad de los países desarrollados (Ganji *et al.*, 2003). Existe la posibilidad de enriquecer el contenido de la carne con AG *n*-3 y ácido linoleico conjugado (CLA) a través de la suplementación en la dieta con semilla de lino (fuente de *n*-3) y CLA protegido (fuente directa de CLA). La inclusión en la dieta de los rumiantes de alimentos ricos en estos ácidos grasos tiene un efecto positivo en la composición de la grasa en relación con la salud humana (Campo *et al.* 2006), pero esta modificación del perfil lipídico puede alterar las características físicas y químicas de la carne. Los ácidos grasos están involucrados en varios aspectos de la calidad y la variación en la composición de la grasa intramuscular puede provocar modificaciones en las características sensoriales de la carne, como la jugosidad y la ternura (Thomson, 2004). El objetivo del presente estudio ha sido observar el efecto que el enriquecimiento con semilla de lino y CLA protegido tiene sobre la calidad de la carne de vacuno.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó el engorde de 48 terneros frisonos enteros, distribuidos en cuatro lotes de alimentación: control, lino (10% de semilla de lino), CLA (2% de CLA protegido), y lino + CLA (con un 10% de semilla de lino y un 2% de CLA protegido). Los cuatro piensos se formularon isoproteicos e isoenergéticos (Pere *et al.*, 2011). Una vez los animales alcanzaron el peso y edad aproximados de 450 kg y 12-13 meses de edad, fueron sacrificados. A las 24 horas post sacrificio, se obtuvo el músculo *Longissimus dorsi*, sacando primero la 10ª costilla entera, donde se midió el pH (a las 24 y 48 horas post sacrificio). La parte del músculo anterior a la 10ª costilla (desde la 6ª vértebra torácica) se dividió en función de las necesidades de muestra para cada análisis. Para medir las pérdidas por cocinado y la textura con Warner-Bratzler, se cortaron tres filetes de 3,5 cm de grosor, que fueron envasados individualmente al vacío y mantenidos en refrigeración (2 - 4º C) hasta alcanzar 1, 7 y 21 días de maduración. Una vez madurada la carne el tiempo correspondiente, las muestras se congelaron y se mantuvieron a - 18º C hasta el momento del análisis, para el cual se descongelaron previamente durante 24 horas en refrigeración a 2 - 4º C. El análisis de textura se realizó con la célula de cizalla de Warner-Bratzler acoplada a una máquina de ensayos universal Instron serie 4301. Las muestras fueron cocinadas al vacío en un baño maría a 75º C hasta que alcanzaron una temperatura interna de 70º C. Tras enfriarse, se cortaron en paralelepípedos de 1 cm² con el eje longitudinal perpendicular a la dirección del corte. Las variables de referencia obtenidas fueron la carga máxima, y la dureza. Las pérdidas por cocinado se calcularon a partir de las mismas muestras que para medir la textura, pesándolas antes y después de la cocción al baño maría, y calculando el porcentaje de pérdida (Cañeque y Sañudo, 2005).

El tratamiento estadístico de los resultados se realizó con el programa SPSS 15.0, donde se aplicó un Modelo Lineal General considerando como efectos fijos el tipo de dieta y la maduración en cada una de las variables estudiadas. Para identificar diferencias significativas entre medias ($p \leq 0,05$) se aplicó el test de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas para los valores de pH medidos a las 48 horas post sacrificio, siendo la carne de las dietas enriquecidas con semilla de lino, CLA y su combinación las que mostraron valores de pH más bajos (Tabla 1), aunque todos ellos se encuentran dentro del rango de valores normales.

El tipo de dieta y la maduración, pero no su interacción, dieron diferencias significativas para las pérdidas por cocinado y para las variables de textura estudiadas (Tabla 2). La carne de los animales del lote CLA mostró mayores porcentajes de pérdidas por cocinado que el resto. Por el contrario, los lotes control y la combinación lino + CLA, fueron los que más agua retenían después de la cocción en baño maría. En cuanto al tiempo de maduración, se observó que las pérdidas por cocinado disminuyeron de forma significativa después del día 1, pero permanecieron constantes entre los días 7 y 21 de maduración.

En cuanto a la textura, la carne del lote control necesitó de mayor fuerza para su corte, mientras que la procedente de los animales de lote lino fue la más tierna de todas. Sin embargo, el lote CLA y su combinación con lino, mostraron valores intermedios entre ambas sin llegar a ser diferentes significativamente de éstas. Esto puede ser debido a que la inclusión de semilla de lino haya modificado el perfil lipídico de la carne, aumentando el nivel de ácidos grasos insaturados, los cuales tienen una temperatura de punto de fusión más baja que los ácidos grasos saturados y por tanto la grasa de esta carne resultar menos firme (Wood et al. 2003). De los tres tiempos de maduración estudiados, los correspondientes a los 7 y 21 días fueron los más tiernos.

Para la dureza (kg/cm²) no aparecieron diferencias significativas entre el tipo de dieta, sólo una tendencia que muestra un comportamiento similar a la carga máxima. El efecto de la maduración resultó muy significativo para la dureza, tal y como había esperado ya que se ha demostrado que la ternura de la carne aumenta con el tiempo de maduración al actuar de manera positiva la actividad enzimática para reducir la dureza miofibrilar, fundamentalmente (Campo et al. 2000).

La inclusión de lino o de grasa rica en CLA ha tenido menor influencia en las variables de calidad estudiadas que el efecto de la maduración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ganjii, S.H., Kamanna, A.M., and Kashyap. M.L. 2003. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14, 298-305.
 - Campo, M.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., Enser, M., Wood, J.D. y Richardson, R. I. 2006. *Meat Sci.*, 72, 303-311
 - Thomson, J.M. 2004. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 44, 645-652.
 - Cañeque, V., Sañudo, C. Monografías INIA: Serie ganadera, nº: 3, 2005.
 - Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R. y Enser, M. 2003 *Meat Sci.*, 66, 21-32.
 - Campo, M.M., Santolaria, P., Sañudo, C., Lepetit, J., Olleta, J.L., Panea, B. y Alberti, P. 2000. *Meat Sci.*, 55, 371-378.
- AGRADECIMIENTOS, proyecto financiado por INIA RTA2009-00004 y fondos Feder.

EFFECT OF WHOLE LINSEED AND PROTECTED CLA ENRICHED DIET ON BEEF QUALITY

ABSTRACT. 48 Friesian calves were randomly allocated to four feeding batches: control, whole linseed (10% linseed), CLA (2% protected CLA), and whole linseed + CLA (10% linseed and 2% protected CLA). Animals were slaughtered at approximately 450 kg live weight. The inclusion of linseed, protected CLA and both showed lower pH values than the control at 48 h post mortem. Meat from CLA fed animals showed higher cooking losses than the other treatments except for linseed. Beef from linseed fed animals was more tender than the control. Beef aged for 7 and 21 days showed lower cooking loss, maximum load and shear force compared with 1 day ageing. The effect of ageing was more significant than the diet on meat quality.

Keywords: *linseed, CLA, cooking losses, tenderness*

Tabla 1. Valores medios, desviación estándar, valor F y significación del efecto de la dieta sobre los valores de pH medidos a las 24 y 48 horas post sacrificio.

	Control	Lino	CLA	Lino + CLA	Dieta
pH 24	5,63 ± 0,24	5,53 ± 0,12	5,47 ± 0,04	5,54 ± 0,08	2,57t
pH 48	5,62 ± 0,14a	5,59 ± 0,11b	5,57 ± 0,05b	5,59 ± 0,09b	2,91*

ns: no significativo; t= p ≤ 0.1; * = p ≤ 0.05; ** = p ≤ 0.01; *** = p ≤ 0.001. a, b: diferentes letras implican diferencias significativas p ≤ 0,05

Tabla 2. Valores medios, desviación estándar, valor F y significación del efecto de la dieta y la maduración sobre las pérdidas por cocinado (%), la carga máxima (kg) y la dureza (kg/cm²).

	Control	Lino	CLA	Lino + CLA	1 día	7 días	21 días	Dieta	Maduración
Perdidas cocinado	17,77 ± 3,21b	18,38 ± 2,28ab	19,31 ± 2,22a	17,99 ± 2,33b	19,28 ± 2,46a	18,08 ± 2,47b	17,74 ± 2,59b	2,99*	5,51**
Carga máxima	5,55 ± 1,58a	4,64 ± 1,28b	4,96 ± 1,94ab	5,22 ± 1,70ab	6,63 ± 1,56a	4,55 ± 1,13b	4,09 ± 0,98b	3,59*	58,47****
Dureza	2,11 ± 0,57	1,76 ± 0,38	1,92 ± 0,74	1,99 ± 0,74	2,39 ± 0,72a	1,75 ± 0,43b	1,71 ± 0,46b	2,44t	23,18****

ns: no significativo; t= p ≤ 0.1; * = p ≤ 0.05; ** = p ≤ 0.01; *** = p ≤ 0.001. a, b: diferentes letras implican diferencias significativas p ≤ 0,05. La significación de la interacción Dieta x Maduración no aparece por ser no significativa para todas de las variables estudiadas.

EFFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y LA EDAD DE SACRIFICIO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS PRODUCTIVAS, CALIDAD DE LA CANAL Y DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DE LA CARNE DE AÑOJOS DE RAZA TUDANCA.

Humada, M.J.¹., Cimadevilla, C.¹., Sañudo, C.²., Dugan, M.E.R.³., Rolland, D.C.³ y Serrano, E.¹.

¹Centro de Investigación y Formación Agrarias. Gobierno de Cantabria. C/ Héroes dos de mayo, 27.39600. Muriedas. Cantabria. España. E-mail: mariajosehumada@cifacantabria.org

²Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177. 50013. Zaragoza.

³Agriculture and Agri-Food Canada. Lacombe Research Centre. Alberta. Canadá.

INTRODUCCIÓN

La tudanca es una raza bovina autóctona de Cantabria, catalogada en peligro de extinción (RD 2129/2008). Aunque se encuentra incluida en la I.G.P. "Carne de Cantabria", la mayoría de terneros se venden como pasteros con 5-6 meses de edad. Entre las alternativas para el acabado de los animales en las explotaciones se encontrarían el sistema intensivo basado en pienso y paja *ad libitum* y el acabado de forma semiextensiva aprovechando los recursos forrajeros de la explotación y minimizando el consumo de concentrados. Teniendo en cuenta estas consideraciones y el interés creciente de los consumidores por aspectos como la calidad nutritiva de los alimentos, el objetivo de este trabajo es estudiar el efecto de dos sistemas de producción (intensivo y semiextensivo) y dos edades de sacrificio (12 y 14 meses) sobre los rendimientos, la calidad de la canal y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de la carne de añojos tudancos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los trabajos experimentales se realizaron en la Finca Aranda (Cóbreces, Cantabria). Se emplearon 33 machos enteros de raza tudanca, destetados con 5 meses. Dos lotes de terneros se acabaron en estabulación y se alimentaron con paja de cebada y concentrado *ad libitum* (sistema intensivo). Otros dos lotes permanecieron en pastoreo y recibieron un suplemento de alimento concentrado a razón del 1% del peso vivo (sistema semiextensivo). El período de pastoreo de estos animales se interrumpió durante la invernada. En esta etapa se alimentaron con silo de hierba a libre disposición y 2 kg/animal/día de concentrado. Los animales de ambos sistemas se sacrificaron a los 12 y 14 meses de edad (Lotes 12i, 14i, 12s, 14s, respectivamente). Los animales se pesaron mensualmente y se registró la oferta de concentrado y paja de cada lote. En la figura 1 se pueden ver la edad (días) y las fechas de inicio y fin de las distintas etapas del período productivo estudiado para los cuatro lotes. Todos los animales de un mismo lote se sacrificaron el mismo día en un matadero comercial. Inmediatamente después del sacrificio se registró el peso de la canal caliente y las notas de conformación y engrasamiento (Reglamentos (CE) 1208/81 y 2273/91). A las 24 h del sacrificio se pesó la grasa perirrenal y se tomaron muestras del músculo *L. thoracis* a nivel de la 7ª costilla para determinar su perfil lipídico. La extracción de la grasa intramuscular se realizó según la técnica de Bligh y Dyer (1959) y la metilación de los ácidos grasos según IUPAC (1987). Los ésteres metílicos resultantes se identificaron con un equipo de cromatografía gaseosa, con un detector de ionización de llama y columna CP-Sil 88 de 100mx0,25mmx0,2µm. A través de cromatografía líquida con detector de matriz de diodos y tres columnas en serie de Ag+ se separaron e identificaron los isómeros del ácido linoleico conjugado (CLA). Los datos fueron analizados con el paquete estadístico SPSS Statistics 17.0, utilizando un modelo de dos factores (sistema de producción y edad de sacrificio) y su interacción para todas las variables excepto para las ganancias medias diarias (GMD) en la que sólo se consideró el factor de edad de sacrificio dentro de cada sistema de producción.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los consumos medios totales de concentrado para los lotes 12s, 14s, 12i, 14i fueron de 368, 494, 1.198 y 1.493 kg MS/animal, respectivamente.

La GMD de los terneros del lote 14i fue superior ($p \leq 0,001$) a la de los animales del lote 12i (1086 vs 986 g/día). También se observaron diferencias significativas ($p \leq 0,001$) en la GMD entre los lotes 12s y 14s tanto durante el período de invernada como durante la fase final de cebo en pastoreo (368 vs 876 y 1.153 vs 1.355 g/día para los lotes 12s y 14s en cada uno de los períodos, respectivamente). En la tabla 1 podemos observar que el peso vivo de sacrificio y el peso de la canal variaron ($p \leq 0,001$) con el sistema de producción y la edad

de sacrificio. Para ambas variables los valores más altos ($p < 0,05$) correspondieron al lote 14i y los más bajos ($p < 0,05$) al lote 12s no encontrándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los lotes 14s y 12i. Pese a las diferencias en el peso de la canal no se observaron diferencias ($p > 0,05$) entre lotes en la conformación. El engrasamiento de la canal se vio afectado únicamente por el factor sistema de producción ($p < 0,001$). El lote 12s presentó una nota de engrasamiento inferior ($p \leq 0,05$) a la de los otros tres lotes que no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellos. En cuanto al peso de la grasa perirrenal, se observó un efecto significativo ($p \leq 0,001$) tanto del sistema como de la edad de sacrificio ($p \leq 0,001$). Los animales del sistema semiextensivo presentaron valores de peso de la grasa perirrenal inferiores ($p < 0,05$) a los del intensivo y dentro de cada sistema los valores más bajos ($p < 0,05$) correspondieron a los de menor edad. Estas diferencias se pueden considerar esperables dada la variación en el contenido energético de las raciones (Bavera et al., 2005) y la elevada precocidad del tejido adiposo perirrenal (Vernon, 1986). Como era de esperar (Leheska et al., 2008), los animales de los lotes de 12s y 14s presentaron valores de grasa intramuscular inferiores ($p \leq 0,05$) a los de los lotes 12i y 14i (Tabla 2). En concordancia con los resultados de Alfaia et al. (2009), los dos lotes del sistema semiextensivo presentaron valores inferiores de % de MUFA ($p \leq 0,05$) y superiores ($p \leq 0,05$) de % de n-3, CLA y PUFA a los del sistema intensivo. Los valores de ratio n-6/n-3 variaron con el sistema de producción ($p \leq 0,001$), la edad de sacrificio ($p \leq 0,01$) y la interacción entre ambos factores ($p \leq 0,001$). En concordancia con las observaciones de otros autores (Nüernberg et al., 2005), la ausencia de diferencias entre lotes en la cantidad relativa de ácidos grasos n-6 y el mayor porcentaje de n-3 en los lotes del sistema semiextensivo se acompañó de un menor valor ($p < 0,05$) del ratio n-6/n-3 en estos últimos. A modo de conclusión, se podría destacar que las elevadas diferencias en el consumo de concentrado entre los dos sistemas productivos (en torno a 900kg / animal) se tradujeron en incrementos del peso de la canal de en torno a 30 kg / animal. El sistema de acabado intensivo no implicó una mejora efectiva clara de la conformación ni del engrasamiento de las canales. Por otro lado, los resultados apuntan hacia la obtención de un perfil de ácidos grasos más favorable desde el punto de vista de la salud del consumidor en los animales del sistema de acabado semiextensivo. Así los valores del ratio n-6/n-3 se ajustaron a las recomendaciones (entre 1 y 4) del Department of Health (1994) solo en los animales de los lotes 12s y 14s. Estos resultados preliminares deben completarse con un estudio más exhaustivo del perfil de ácidos grasos y de las características organolépticas de la carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Bligh, E. G., Dyer, W. J. 1959. Can. J. Bioch. Physiol. 37: 911-917. •IUPAC.1987.Methylation with cold MeKOH solution •Bavera, G., et al 2005.www.produccion-animal.com. •Vernon, R. G. 1986.67–83. •Leheska, J. M., et al.2008. J.Anim.Sci. 86:3575-3585. •Alfaia, C. P. M., et al. 2009. Food Chem. 114(3): 939-946. •Nüernberg, K.,et al. 2005. Livestock Production Science 94, 137-147. •Department of Health. 1994. Nutritional Aspects of Cardiovascular Disease. No. 46.

Agradecimientos: Operarios de la Finca Aranda. Proyecto INIA RTA 2007-00003-00-00.

Tabla 1. Valores medios de peso al destete (Peso vivo 5m), peso vivo de sacrificio, peso de la canal fría, engrasamiento y conformación de la canal y peso de la grasa perirrenal de los cuatro lotes de añejos tudancos.

	Sistema de Producción (s)				e.s.	Sig s	Sig e	Sig sxe
	Semiextensivo		Intensivo					
Edad (e)	12 m	14 m	12 m	14 m				
Peso vivo 5m (kg)	120	126	124	116	14,90	ns	ns	ns
Peso vivo sacrificio (kg)	279 ^c	350 ^b	329 ^b	385 ^a	51,33	***	***	ns
Peso canal fría (kg)	141 ^c	187 ^b	178 ^b	213 ^a	34,30	***	***	ns
Engrasamiento (1-15)	2,3 ^b	4,4 ^a	5,4 ^a	5,0 ^a	1,75	***	ns	*
Conformación (1-18)	4,0	4,5	3,9	5,0	1,25	ns	ns	ns
Peso g. perirrenal (kg)	0,53 ^d	1,14 ^c	2,17 ^b	2,74 ^a	1,00	***	***	ns

ns = $p > 0,1$; * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$

Tabla 2. Valores medios de contenido en grasa intramuscular (*G. Intramusc.*) y composición (%) de la grasa intramuscular del músculo *L. thoracis* de los cuatro lotes de añajos tudancos.

	Sistema de Producción (s)				e.s.	Sig s	Sig e	Sig sxe
	Semiextensivo		Intensivo					
Edad (e)	12 m	14 m	12 m	14 m				
G. Intramusc. (%MF)	1,1 ^b	1,3 ^b	3,0 ^a	2,7 ^a	1,14	***	ns	ns
∑ SFA ¹ (%)	37,4 ^b	39,8 ^{ab}	42,0 ^a	41,0 ^a	3,46	*	ns	ns
∑ MUFA ² (%)	30,7 ^c	35,2 ^b	40,7 ^a	41,0 ^a	5,47	***	ns	ns
∑ n-6 ⁵ (%)	20,0	14,6	13,7	14,5	5,24	ns	ns	ns
∑ n-3 ⁵ (%)	8,6 ^a	7,1 ^b	1,3 ^c	1,2 ^c	3,71	***	ns	ns
∑ CLA ³ (%)	0,79 ^a	0,83 ^a	0,48 ^b	0,44 ^b	0,199	***	ns	ns
∑ PUFA ⁴ (%)	30,5 ^a	23,6 ^b	16,2 ^c	16,8 ^c	8,19	***	ns	ns
n-6/n-3	2,3 ^c	2,1 ^c	10,6 ^b	12,8 ^a	4,99	***	**	***
PUFA/SFA	0,84 ^a	0,60 ^b	0,40 ^b	0,41 ^b	0,256	***	ns	ns

ns = p > 0,1; * = p ≤ 0,05; ** = p ≤ 0,01; *** = p ≤ 0,001. ¹Ácidos grasos saturados; ²Ácidos grasos monoinsaturados; ³Ácido linoleico conjugado; ⁴Ácidos grasos poliinsaturados y ⁵Ácidos grasos poliinsaturados de las series n-6 y n-3.

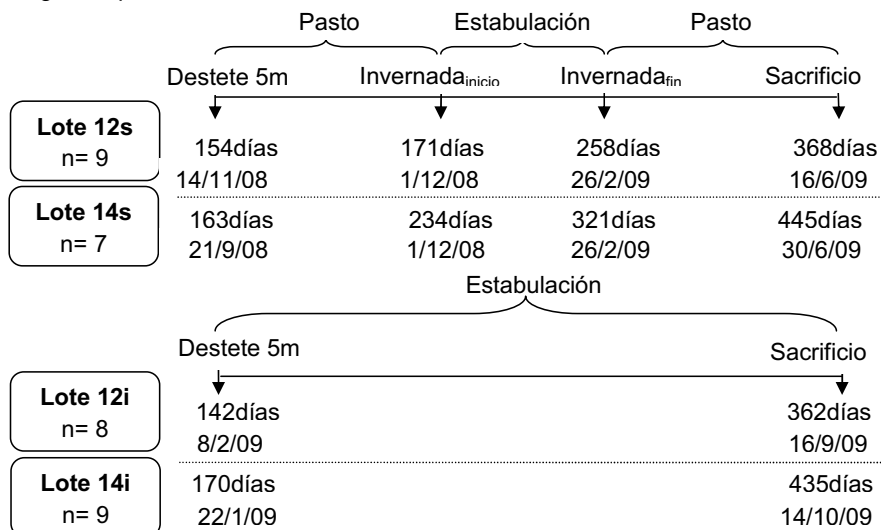


Figura 1. Edad (días) y fechas de las distintas etapas del período productivo para los 4 lotes

PRODUCTIVE CHARACTERISTICS, CARCASS QUALITY AND INTRAMUSCULAR FAT FROM THE TUDANCA BREED BEEF.

ABSTRACT. Thirty three male tudanca young bulls were used to evaluate 2 production systems (intensive and semiextensive) and 2 slaughter ages (12 and 14 months). Although there were differences in the average daily gains along the finishing period between groups, no differences were observed in conformation score. In contrast, production system affected fatness score. Semiextensive feed animals slaughtered at 12 months of age presented values of fatness scores lower than other groups ($p \leq 0,05$). Furthermore, the lower content of SFA, MUFA, n-6/n-3 and the highest content of PUFA and n-3 found in intramuscular fat from tudanca young bulls pasture-fed were considered more beneficial to human health than those grain-fed.

Keywords: tudanca, production systems, productive characteristics, fatty acids.

EMPLEO DE SOJA O DE LEGUMINOSAS GRANO EN CEBO DE TERNEROS DE AMBOS SEXOS EN PRODUCCIÓN ECOLÓGICA Y SU EFECTO SOBRE LA CALIDAD DE SU CARNE.

Cañeque, V.¹, López, O.¹, Pérez, C.¹, Díaz M.T.¹, Ramos, M.², Pérez, C.³, Lauzurica, S.⁴, Muíño, I.¹ y De la Fuente, J.⁴

¹INIA, Dpto. Tec. Alimentos, Ctra. De la Coruña km.7.5, 28040, Madrid. cañeque@inia.es.
²CAEM, Avda. España, 43, 10600 Plasencia (Cáceres). ³UCM, Fac. Vet. Dpto. Fisiol. Animal (Biol.), Avda. Puerta de Hierro s/n 28040 Madrid. ⁴UCM, Fac. Vet. Dpto. Prod. Animal, Avda. Puerta de Hierro s/n 28040 Madrid.

INTRODUCCIÓN

La producción ecológica de vacuno es difícil de llevar a cabo en nuestro país cumpliendo la normativa actual ya que no se dispone de pastos naturales durante largos periodos de tiempo debido a la concentración de lluvias y a la variabilidad anual de las mismas. Por ello es necesario alargar el periodo de suministro de pienso en los años de baja pluviometría, en especial en la fase de acabado, lo que encarece enormemente la producción, debido al elevado coste del pienso de soja ecológica. En este trabajo se ha estudiado la posibilidad de sustituir la soja ecológica como fuente proteica del pienso, por leguminosas grano, también ecológicas pero de menor coste, considerando el efecto que puede presentar en la calidad de la carne. El estudio se ha realizado en machos y hembras por el desigual comportamiento observado en ambos sexos en cuanto a crecimiento, consumo y por su efecto sobre la calidad de la carne debido al mayor engrasamiento que presentan las hembras.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 38 animales, 20 hembras y 18 machos que fueron controlados desde el destete que tuvo lugar a los 170Kg de peso vivo en los machos y 155Kg en las hembras con una edad de 222 y 210 días respectivamente. Ambos sexos se mantuvieron en parcelas separadas pastoreando en pasto natural suplementado con pienso ecológico hasta el acabado en que se hicieron los lotes experimentales, dos para cada sexo y recibieron ambos sexos los piensos ecológicos que se indican en la tabla 1 con un contenido medio de un 15% de proteína bruta. Los terneros se mantuvieron en cebo durante 115 días en estabulación libre hasta que fueron llegando al peso de sacrificio que fue de 550Kg en los machos y 455Kg en las hembras, aportando los piensos a voluntad con un 10% de paja. Al sacrificio se pesó la canal en caliente y se procedió al despiece a las 24 horas tomándose una muestra de lomo de la media canal izquierda que comprendió las costillas 6^a a 10^a torácicas. La muestra fue envasada a vacío y madurada durante 10 días conservándose posteriormente congelada hasta la toma de muestras que se hizo según se indica en Sañudo *et al* (2005).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales.

	Pienso soja	Pienso leguminosas	Pasto natural
Cereales (%)	75	52,9	-
Guisantes (%)	-	18	-
Algarrobas (%)	-	10,0	-
Harina de soja (44%)	8,5	-	-
Harina de girasol (30%)	7	9	-
Otros componentes (%)	9,5	10,1	-
Contenido en grasa	6,0	5,8	1,7
Ácidos grasos:			
Saturados	42,2	25,8	43,1
Monoinsaturados	33,8	40,0	8,3
Poliinsaturados	21,8	30,3	48,5
w3	1,7	1,9	28,5

Los análisis de calidad de carne se hicieron según la metodología indicada en Sañudo y Cañeque (2005). Los resultados se analizaron como un modelo factorial 2x2 considerando como factores el sistema de alimentación y el sexo, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS 9.0. Se utilizó el test de comparación de medias de Student Newman-Keuls.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados se indican en la tabla 2. El crecimiento en el periodo del cebo fue semejante para ambos sistemas de alimentación (1,3Kg/día) como señalan Ben Salen y Fraj (2006) siendo mayor para machos (1,47Kg/día) que para las hembras (1,15Kg/día). El rendimiento a la canal presenta efecto del sistema de alimentación ($P < 0,05$), siendo mayor en el caso del pienso de leguminosas, y del sexo ($P < 0,01$), obteniéndose mayores valores en las hembras (59,1%) que en los machos (57,1%). Este valor es semejante al encontrado en las razas Avileña y Morucha (Alberti *et al.*, 1997) aunque sacrificados a un peso menor (450Kg).

No se aprecian diferencias significativas en el pH ni en la capacidad de retención de agua, para ninguno de los dos factores estudiados. La humedad de la carne de las hembras sí es significativamente ($P < 0,01$) menor que la de los machos.

Tabla 2. Datos productivos y de calidad de carne.

	Sist. de alimentación		Sexo		SEM	A	S	A x S
	Soja	Leguminosas	Machos	Hembras				
Datos productivos:								
Peso al sacrificio (Kg)	496,2	505,7	550,8	455,6	10,46	ns	***	ns
Crec. cebo (Kg/día)	1,30	1,30	1,47	1,15	0,04	ns	***	ns
Canal caliente (Kg)	284,3	298,3	325,2	260,0	7,21	ns	***	ns
Rendto. Canal ² (%)	57,21	58,8	57,0	59,1	0,64	*	**	ns
Calidad de la carne:								
Humedad (%)	73,0	72,6	73,5	72,3	0,37	ns	**	ns
CRA (%)	68,30	66,54	68,51	66,18	1,30	ns	ns	ns
pH	5,5	5,5	5,4	5,5	0,02	ns	ns	ns
Grasa intra (%)	2,9	2,3	1,8	3,3	0,36	ns	**	ns
Color:								
L*	31,23	31,7	29,79	32,71	1,33	ns	*	ns
a*	14,87	15,26	15,22	14,93	0,67	ns	ns	*
b*	16,53	17,26	16,14	17,45	0,41	ns	**	ns
Metamioglobina (%)	5,0	8,55	3,28	9,32	1,51	*	***	ns
Textura ¹ (Kg)	4,6	4,9	5,7	4,0	0,43	ns	***	*
Ácidos grasos (%):								
Saturados	46,02	44,35	45,07	45,36	0,92	ns	ns	ns
Monoinsaturados	42,8	41,22	37,85	45,37	1,17	ns	***	ns
Poliinsaturados	11,21	14,43	17,10	9,30	1,55	*	***	ns

¹Carga máxima (Warner-Bratzler). CRA: Capacidad de retención de agua. L*: luminosidad. a*: índice de rojo. b*: índice de amarillo. SEM: Error Estándar de la Media. A: Sistema de alimentación. S: sexo. A x S: interacción. Nivel de significación: ns, no significativo; *, $P < 0,05$; **, $P < 0,01$; ***, $P < 0,001$.

El valor L* o luminosidad estuvo afectado por el sexo ($P < 0,05$). Las diferencias pueden ser debidas al contenido en grasa intramuscular, que es mayor en las hembras, ya que valores superiores a 2,5% aumentan la reflectancia de la luz dando lugar a un aspecto más claro de la carne (Barton-Gade, 1981). El valor de b*, también afectado por el sexo ($P < 0,001$), podría estar relacionado con los componentes amarillos de la grasa, lo que justificaría el valor más alto de las hembras. La metamioglobina, aunque afectada por el sexo ($P < 0,001$) y por la alimentación ($P < 0,001$) presenta valores bajos muy inferiores al valor de 20 en que puede empezar a ser rechazada por algunos consumidores (Mac Dougall D.B. 1982).

La textura presenta una interacción entre los factores estudiados ($P < 0,05$) aunque se mantiene un valor más elevado para los machos, lo que se correspondería con una carne más tierna para las hembras, como ha encontrado Savell *et al.*, 1987, que lo atribuyen a su mayor contenido en grasa, al prevenir el mayor engrasamiento el acortamiento por el frío Sañudo *et al.* 1997)

El contenido de vitamina E no presentó diferencias entre tratamientos aunque su valor medio (0,84mg/Kg de músculo) es superior al encontrado en un cebo tradicional debido a que todavía queda un residuo del largo periodo que permanecieron los terneros en pastoreo. El valor encontrado es próximo a 1,2mg/Kg que se considera como mejorante de la estabilidad del color (Claeys *et al.*, 1998).

Respecto a la deposición en ácidos grasos el efecto es debido al sexo para los ácidos grasos monoinsaturados que son mayores en las hembras (45,4 frente a 37,8% de los machos) lo que se corresponde con la idea general de que a mayor engrasamiento, mayor contenido en ácidos grasos monoinsaturados (Cuvelier *et al.* 2005). Los ácidos grasos poliinsaturados estuvieron afectados por la alimentación ($P < 0,05$) aumentando en los animales que reciben leguminosas por el mayor contenido de estas en estos ácidos grasos. También estuvieron afectados por el sexo ($P < 0,01$), siendo superiores en los machos por el mayor contenido en ácido linoleico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Alberti, P., Sañudo, C., Campo, M.M., Frasco, J., Lahoz, F., Olleta, J.L. ITEA vol extra, 18: 745-747 ●Barton-Gade, P.A., Cross, A.R., Jons, J.M., Winger, R.J. 1988. Meat Science Milk Science and Technology. (Ed Cross HR, Overby. A.J.) Elsevier, 141-171. ●Ben Salem, M., Fraj, M., 2006. Rench Ruminants. Paris. 118 ●Cañeque, V., Sañudo, C. 2005. (López, A.) Monografías INIA: Serie Ganadera nº3. ●Claeys y Lauwers, 1998. En: Qualité et technologie (Ed. Demeyer) Université de Gand ●Cuvelier, C., Clinquart, A., Hocquette, J.F., Cabaraux, J.F., Dufresne, I., Istasse, L., Hornick, J.L., 2006. Meat Sci. 74: 522-531 ●Mac Dougall D.B. 1982. Changes in the color and opacity of meat. Food Chem. 9, 75. ●Pérez-Álvarez, J.A., Fernández-Opez, J., Sayas Barberá, M.E., Cartagena-García, R. 1998. Eurocarne nº63, 115-122. ●Sañudo, C., Olleta, J.L., Campo, M.M., Panea, B., Rota, E. En: Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. (López, A.) Monografías INIA: Serie Ganadera nº3:201-205 ●Savell, J.W., Branson, R.E., Cross, H.R., Stiffler, D.M., Wise, J.W., Griffin, D.B., Smith, G.C. 1987. J. Food Sci., 52: 517-519.

Agradecimientos: Financiado por el proyecto INIA: AEG 08-021-C4-3. Agradecemos a D. Enrique de la Vega las facilidades dadas para la realización de la crianza y cebo de los terneros en su finca "Casablanca" de Plasencia.

USE OF SOYA OR LEGUMINOSAE GRAIN ON THE MEAT QUALITY OF CALVES FROM BOTH SEXES FATTENED ON ORGANIC PRODUCTION SYSTEMS.

ABSTRACT. The effect of sex and fattening system on the quality of organically produced calf meat was studied. For that purpose, feed supplemented with either soya flour or a mixture of peas and carob beans was used at the end of the fattening period. Slaughter weights were 550 and 455 kg for males and females, respectively.

Analyses were performed on loins after 10 days of ageing. Non-significant differences in pH, water holding capacity, or in the vitamin E content were observed. However, meat from females showed higher values of intramuscular fat, moisture and colour brightness (L^*) than those from males. In addition, lower Warner-Bratzler shear force was observed in meat from female calves. Regarding the fatty acid profile, the higher monounsaturated fatty acid proportion was observed in meat from females, whereas the higher proportion of polyunsaturated fatty acids was found in meat from males.

Keywords: *fatty acids, feeding systems, sex, meat quality*

EFEECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN ECOLÓGICO Y CONVENCIONAL EN LA COMPOSICIÓN LIPÍDICA DEL LONGISSIMUS DORSI DE TERNEROS

García-Torres, S., Curbelo, P., Osorio, C., López, M.M., Parra, V., López-Gajardo, A. y Tejerina, D. susana.garcia@juntaextremadura.net
Centro de Investigación Finca "La Orden-Valdesequera". Dpto. producción Animal. Junta de Extremadura. 06187-Guadajira (Badajoz)

INTRODUCCIÓN

Los consumidores demandan cada día alimentos de mayor calidad. Basada en esta preocupación, determinados sistemas de producción de productos animales han tenido un gran desarrollo. Este es el caso del sistema de producción ecológica, que oferta productos de calidad entendida desde el punto de vista global. En el caso de la carne, la preocupación del consumidor es creciente, no solamente por tener una carne de calidad organoléptica sino que también, además de poder tener calidad sanitaria, haya sido obtenida de forma sostenible y donde los animales hayan gozado de un buen estado de bienestar.

Hay algunos estudios que comparan la calidad de los productos producidos de forma ecológica y convencional (Guinot-Thomas *et al.*, 1991, Lund, 1991) aunque el número de estudios enfocados a la calidad de la carne de vacuno es reducido (Tisserand, 2002, Ligda *et al.*, 2002, Pinna *et al.*, 2001). La mayoría de las investigaciones están enfocadas a la producción lechera tanto de vacuno como de ovino en particular en norte y centro de Europa (Weller, 2002; Cooman *et al.* 2002).

Otra preocupación de los consumidores es consumir alimentos saludables. Teniendo en cuenta que la carne es un alimento rico en grasas y puesto que los ácidos grasos saturados están relacionados con las enfermedades asociadas al estilo de vida actual. (Wood *et al.*, 2003), es importante tener en cuenta este aspecto.

Por lo tanto, y recogiendo ambos aspectos de la preocupación por parte de los consumidores, se plantea como objetivo en este trabajo en caracterizar la calidad de la grasa obtenida bajo dos sistemas de producción de carne de vacuno, ecológico y convencional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los sistemas de producción estudiados fueron: el sistema ecológico en la dehesa extremeña (65 animales), según el Reglamento de Producción Ecológica (Reglamento (CE) 834/2007) y el sistema convencional (70 animales) en corrales de engorde con pienso concentrado "ad libitum".

Los terneros pertenecientes a razas de vacuno típicas de la dehesa: Retinta, Avileña y Morucha. Los terneros se destetaron a la edad de 6-7 meses y comenzaron su periodo de engorde según los sistemas de producción planteados. Una vez alcanzado el peso de sacrificio medio de 450-500 kg, se sacrificaron y tras 24 h de reposo en cámara de frío, se extrajo el músculo *Longissimus thoracis* tanto de las canales procedentes del sistema de producción convencional como del ecológico. De esta pieza se extrajo la grasa intramuscular por el método descrito por Bligh y Dyer (1959) y posteriormente se procedió a la metilación de ácidos grasos siguiendo el método descrito por Morrison y Smith (1964). El perfil de ácidos grasos se realizó por cromatografía de gases utilizando el modelo Varian 3900 con detector de ionización de llama. La temperatura del inyector era de 230°C y la del detector de 240°C. La columna utilizada fue DB-23 (60 m x 0,25 mm x 0.25 micrómetros de espesor del capilar). El gas portador fue el nitrógeno con una presión de 23.5 psi. El programa de temperatura del horno fue como el que sigue: 8-140 a 20°C min; 140 -225 a 3°C min y manteniéndose a 225°C durante 15 minutos. El flujo de la columna de 1ml/min.

Los cromatogramas fueron procesados usando el Varian Start Workstation 6.0.

El análisis estadístico de los datos se realizó usando el General Linear Model Procedure del paquete estadístico SAS (SAS, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de grasa intramuscular así como el perfil de ácidos grasos del músculo *Longissimus thoracis* procedente de terneros en sistema de producción ecológica y convencional se muestran en la Tabla 1.

Los terneros en condiciones de producción ecológica, alimentados básicamente con pasto, tuvieron menor porcentaje de grasa intramuscular que los que fueron engordados en el sistema convencional (García-Torres *et al.*, 2002, Blanco *et al.* 2005, Serra *et al.*, 2004, Realini *et al.*, 2004). Similares resultados mostraron Muir *et al.* (1998) and Zea and Díaz (1990) al comparar los sistemas de producción ecológica y convencional. Este resultado está acorde con los sistemas de engorde planteados puesto que en el sistema de producción ecológica, la mayor parte del alimento proviene de los recursos naturales y además hay mayor gasto energético debido al ejercicio físico que los animales realizan en busca de alimento

Estos resultados concuerdan con los hallazgos de otros autores (Realini *et al.* 2004, Varela *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos en cuanto al perfil de ácidos grasos indican que los ácidos grasos mayoritarios son el ácido oleico (C18:1), el palmítico (C16:0), el esteárico (C18:0) y el linoleico (C18:2). Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por otros autores para la carne de lomo de vacuno (Realini *et al.* 2004; Varela *et al.*, 2004; Westerling and Hedrick, 1979). No se hallaron diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos en función de los sistemas de producción señalados. Aunque autores como Walshe *et al.* (2006) obtuvieron este mismo resultado al comparar el sistema de producción ecológico con el convencional otros como Realini *et al.* (2004) hallaron mayores porcentajes de C14:0, C16:0, C16:1 y C18:1 en los terneros engordados en sistema convencional que en animales que se engordaron a pasto.

Tanto el ratio SFA como el PUFA:SFA fueron similares en los terneros producidos en ambos sistemas productivos. Los valores de PUFA:SFA estuvieron alrededor de 0.45, dentro de las recomendaciones hechas por el Departamento de Salud de Londres (2004).

En conclusión, aunque la carne de lomo de terneros engordados en sistema de producción convencional tiene mayor porcentaje de grasa intramuscular que los engordados en sistema de producción ecológica, el perfil de ácidos grasos, es decir la calidad de la grasa, no varía en función de los sistemas de producción.

Tabla 1. Valores medios y error estándar del % de contenido en grasa intramuscular y perfil de ácidos grasos del músculo *Longissimus thoracis* de terneros en sistema de producción ecológico y convencional.

	Ecológico	Convencional	Significancia	
% Grasa Intramuscular	1,08±0,07	1,38±0,05	***	
Perfil de Ácidos Grasos (%)	C14:0	2,10±0,64	2,22±0,74	ns
	C16:0	23,76±2,55	24,06±2,80	ns
	C16:1	2,43±1,37	2,39±0,88	ns
	C18:0	15,90±2,45	16,60±2,03	ns
	C18:1	35,27±4,69	35,53±4,07	ns
	C18:2	13,71±4,84	13,02±4,57	ns
	C18:3	1,88±1,74	1,77±1,85	ns
	C20:0	0,85±0,45	0,79±0,45	ns
	C20:4	4,08±1,94	3,62±1,74	ns
	SFA	42,63±0,44	43,66±0,42	ns
	MUFA	37,70±0,63	37,90±0,60	ns
	PUFA	19,67±0,89	18,43±0,85	ns
	n-6:n-3 ratio	16,09±1,67	18,72±1,64	ns
	PUFA:SFA	0,47±0,20	0,43±0,20	ns

*** $p \leq 0.001$; ns $p \geq 0.05$. SFA: Total saturated fatty acids;

PUFA: Total polyunsaturated fatty acids; MUFA: Total monounsaturated fatty acids;

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco, M., *et al.* (2005). ITEA. Vol. Extra, nº26 (II): 771-773. •Cooman, C., *et al.* (2002). In: Organic meat and milk from ruminants. EAAP publication nº106, pp. 181-183. •García-Torres, S., *et al.* (2002). V Congreso SEAE. I Congreso Iberoamericano de Agroecología. pp. 1179-1189. •Guinot-Thomas, P., *et al.* (1991). *Milchwissenschaft* 46: 779-782. •Ligda, Ch., Papadopoulos, Th. and Georgoudis, A. (2002). In: Organic meat and milk from ruminants. EAAP publication nº106, pp. 207-209. •Lund, P. (1991). *Milchwissenschaft* 46: 166-169. •Muir, P.D., *et al.* (1998). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 41: 517-526. •Pinna, W., *et al.* (2001). 52nd Annual Meeting of the EAAP, Budapest 26-29 August 2001. •Realini, C.E., *et al.* (2004). *Meat Science*, 66: 567-577. •Serra, X. *et al.* (2004). *Meat Science*, 66: 425-436. •Tisserand, J.L. (2002). In: Organic meat and milk from ruminants. Kyriazakis and Zervas (editors), EAAP publication nº 106, pp.227-228. •Varela, A. *et al.* (2004). *Meat Science*, 67: 515-522. •Walshe, B.E. *et al.* (2006). *Meat Science*, 73: 319-325. •Weller, R.F. (2002). In: Organic meat and milk from ruminants. EAAP publication nº106, pp. 111-116. •Wood, J.D. *et al.* (2003). *Meat Science*, 66:21-32. •Zea, J. and Díaz, M^a.D. (1990). Ed. Mundi-Prensa, pp.389.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto PDT09B035 y el RTA 2009-00122-C03-00 y fondos FEDER así como por las ayudas FEDER-Junta de Extremadura (Ref. GR10078) al Grupo Tradinnoval (AGA016).

EFFECT OF ORGANIC AND CONVENTIONAL SYSTEMS ON LIPID COMPOSITION OF LONGISSIMUS DORSI OF BEEF CATTLE

ABSTRACT.

Over the last few years, organic farming has rapidly developed in the EU and consumers are not only worried about production systems, but also about increasing consumption of foods rich in saturated fatty acids. In this study, organic (O, n=65) and conventionally (C, n= 70) beef cattle were reared until mean liveweight 450-500 kg. The effect of production systems on the lipid composition of intramuscular fat from muscle *Longissimus thoracis* was studied. Intramuscular fat content was lower in the muscle of O- compared C-cattle. Composition of fattening acids in *Longissimus thoracis*, values were similar ($p>0.05$) between organic- and conventional-animals.

Keywords: organic meat; beef; fatty acids.

EFFECTO DE LA ALIMENTACIÓN LÍQUIDA Y DEL SEXO SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL, DE LA CARNE Y DE LA GRASA DE CERDOS PESADOS DE LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN JAMÓN DE TERUEL.

Daza, A.¹, Sobreviela, A.², Palomo, A.³, Garcés, C.², Cano, J.L.⁴ y López-Bote, C.J.⁴

¹ Departamento de Producción Animal ETSIA de Madrid. UPM. ² PORTESA (Teruel)

³ SETNA. Madrid ⁴ Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. UCM.

argimiro.daza@upm.es

INTRODUCCIÓN

La alimentación líquida, en el contexto de la producción porcina española, tiene escasa importancia cuantitativa, aunque está implantada inusualmente en otros países de la UE (Lizardo et al., 2005). Algunos autores han señalado que la alimentación líquida permite programar adecuadamente la alimentación según las necesidades nutritivas de los cerdos, puede mejorar la calidad de la canal y reducir el impacto medioambiental (Torrallardona, 2003). Sin embargo, el efecto de la alimentación líquida sobre la calidad de la carne y de la grasa ha sido muy poco estudiado. La apuesta de las explotaciones porcinas de la Denominación de Origen "Jamón de Teruel" por incrementar la calidad de sus productos nos ha llevado a estudiar, en el marco de una explotación comercial, si la alimentación líquida contribuye a mejorar la calidad de la canal, de la carne y de la grasa de cerdos pesados de la citada DO.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado 42 canales de 25 machos castrados y 17 hembras enteras Duroc x (Landrace x Large White) procedentes de una explotación adscrita a la DO Jamón de Teruel. Durante el periodo de cebo (25 -130 kg), 21 cerdos se sometieron a un único programa de alimentación líquida que observaba, según fase de desarrollo de los animales, tasas de dilución entre 3,1 y 2,6 litros de agua por kg de harina, mientras que otros 21 cerdos recibieron pienso sólido granulado. En ambos grupos de cerdos se utilizaron cuatro piensos durante el cebo, con la misma composición en materias primas y nutrientes, que contenían, según intervalo de peso vivo de los cerdos, entre 3.300 y 3.200 Kcal de EM/kg, 16,5-13,5% de PB y 1,05 - 0,72% de lisina total. En el matadero se pesaron jamones y lomos y se tomaron muestras de la región caudal del lomo para determinar su composición y parámetros del color. La humedad y materia seca se obtuvieron por el método de Wende. La determinación del color se realizó mediante un espectrofotómetro CM-700D obteniéndose las variables claridad (L*), índice de rojo (a*), de amarillo (b), saturación ($C^* = (a^2 + b^2)^{0.5}$), tono ($H^* = \arctag(b/a) \times 57,29$) y oximioglobina. Los lípidos de la grasa intramuscular se extrajeron mediante el procedimiento "one step" descrito por Sukhija y Palmquist (1988). Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un aparato Hewlett-Packard-6890 (Avondale, PA, USA) Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza que incluía como efectos fijos al tipo de alimentación y al sexo, la interacción entre ambos factores y como covariable el peso de la canal. Además, mediante regresión simple, se estimó la relación entre la proporción de los ácidos grasos y el porcentaje de grasa intramuscular. Todos los análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico SG-Centurión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tipo de alimentación y el sexo no tuvieron efecto significativo ($P > 0,05$) sobre el peso de los jamones y de los lomos y la interacción de ambos factores no fue significativa ($P < 0,72$). Sin embargo, como cabía esperar, la covariable peso de la canal afectó significativamente a las citadas variables. Lizardo et al. (2005) no encontraron influencia significativa de la alimentación líquida sobre la calidad de la canal de cerdos sacrificados con 110 kg de peso vivo. En este experimento ni el tipo de alimentación recibida ni el sexo influyeron significativamente en los porcentajes de humedad, materia seca y grasa intramuscular del lomo y en los parámetros del color (Tabla 1), y la covariable peso de la canal no tuvo efecto estadísticamente significativo ($P > 0,05$) sobre tales características. Sin embargo, la interacción tipo de alimentación x sexo fue significativa para las variables porcentajes de

humedad y de materia seca del lomo y los parámetros del color a^* , b^* , C^* y oximioglobina. Los valores del índice de rojo (a^*) y de oximioglobina fueron superiores en las hembras que en los machos castrados en el grupo de cerdos que recibieron alimentación sólida, pero en el grupo que recibió alimentación líquida no se detectaron diferencias, según sexo, para dichas variables. Sin embargo, el valor del índice de amarillo (b^*) fue significativamente superior en los machos castrados que en las hembras en el grupo de cerdos que recibieron alimentación líquida, mientras que no se encontró diferencia significativa entre sexos en los animales que recibieron alimentación sólida. La saturación (C^*) fue superior en los machos castrados que en las hembras cuando la alimentación recibida fue líquida.

En lo que concierne a la composición en ácidos grasos principales de la grasa intramuscular, la alimentación líquida redujo significativamente las proporciones de C16:0, C18:0 y de saturados totales (SAT) y aumentó las de C18:1 n-9 y de monoinsaturados totales (MONO) no influyendo, sin embargo, en las proporciones de C18:2 n-6 y de poliinsaturados totales (PUFA) (Tabla2). La grasa intramuscular de los machos castrados tuvo proporciones superiores de C16:0 y de SAT e inferiores de C18:2 n-6 que las hembras. La interacción tipo de alimentación x sexo sólo fue significativa para el total de los ácidos poliinsaturados (POLI) ($P < 0,039$) de manera que la alimentación líquida aumentaba la proporción de POLI en las hembras respecto a los machos (11,94 vs 8,47%).

Las relaciones observadas entre las proporciones de C16:0, C18:1 n-9 y C18:2 n-6 y el porcentaje de grasa intramuscular (GIM) en el lomo respondieron a las ecuaciones:

$$C16:0 = 22,61 + 0,25 \text{ GIM} (R^2 = 0,23, \text{RSD} = 0,95, P < 0,0019).$$

$$C18:1 \text{ n-9} = 39,85 + 0,53 \text{ GIM} (R^2 = 0,26, \text{RSD} = 1,71, P < 0,0008).$$

$$C18:2 \text{ n-6} = 7,87 - 0,35 \text{ GIM} (R^2 = 0,42, \text{RSD} = 0,81, P < 0,0001).$$

En ganado porcino se ha observado que la actividad de las enzimas acetil-CoA – carboxilasa, involucrada en la biosíntesis de los SAT, y de la estearoil–CoA-desaturasa (SCD), responsable de la de los MONO, tienen una relación positiva con el porcentaje de GIM (Doran et al., 2006). Así mismo, Cánovas et al. (2009) observaron una relación lineal positiva entre la expresión proteica de la enzima SCD y la grasa intramuscular, la proporción de MONO y el índice C18:1 n-9/C18:0. A tenor de los resultados obtenidos en este experimento parece que la alimentación líquida afecta positivamente a la calidad de la GIM.

Agradecimientos: Trabajo financiado por PORTESA (Teruel)/CDTI.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Cánovas et al., 2009. ITEA Vol Extra, Tomo I,78-79 ● Doran et al., 2006. Br J Nutr, 95, 609-617 ● Lizardo et al., 2005. ITEA Vol Extra,26, (II), 443-445 ●Torrardardona, D.2003. Jornadas de Alimentación Líquida del Ganado Porcino. IRTA, Reus, España ● Sukhija y Palmquist. 1988. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36, 1202-1206.

EFFECT OF LIQUID FEEDING AND GENDER ON CARCASS, MEAT AND FAT QUALITY OF HEAVY PIGS FROM PROTECTED ORIGIN TERUEL HAM.

ABSTRACT. During growing-finishing period, 21 pigs Duroc x (Landrace x Large White) were given liquid feeding and other 21 pigs given solid feeding (granulated feed). The feeding type and gender had not significant effect on carcass and meat quality. However, the interaction between feeding type x gender was significant for the loin dry matter percentage and color variables a^* , b^* , C^* and oximyoglobine. The liquid feeding decreased the C16:0, C18:0 SFA and increased C18:1 n-9 and MUFA proportions in intramuscular fat (IMF). The IMF from castrate males contained higher C16:0, SFA and lower C18:2 n-6 proportions than that from females. Positive and significant relationships between C16:0, C18:1 n-9 and IMF were observed, whereas the relationship found between C18:2 n-6 and IMF was negative.

Key words: liquid feeding, meat and fat quality, heavy pigs.

Tabla 1. Resultados de la interacción tipo de alimentación x sexo sobre la calidad de la carne.

	Líquida		Sólida		sem	P ali	P sexo	P ali x sex
	MC	H	MC	H				
n	12	9	13	8				
H (%)	69,94 ^{ab}	71,41 ^a	70,54 ^{ab}	69,56 ^b	0,53	0,25	0,64	0,029
MS (%)	30,06 ^{ab}	28,58 ^a	29,46 ^{ab}	30,44 ^b	0,53	0,25	0,64	0,029
GIM (%)	5,94	3,92	5,86	5,47	0,60	0,24	0,061	0,20
L	49,50	47,31	50,06	48,88	1,13	0,37	0,15	0,64
a*	5,86 ^{ab}	5,00 ^{ab}	4,44 ^a	6,15 ^b	0,54	0,80	0,46	0,029
b*	14,96 ^a	13,50 ^b	14,63 ^{ab}	15,56 ^a	0,50	0,12	0,65	0,037
C*	16,15 ^b	14,15 ^a	15,39 ^{ab}	16,78 ^b	0,60	0,22	0,83	0,018
H*	68,83	69,98	73,69	68,39	1,78	0,37	0,26	0,086
OxiMb	1,62 ^{ab}	1,57 ^{ab}	1,53 ^a	1,64 ^b	0,036	0,80	0,39	0,041

n = n° de observaciones, H = humedad, MS = materia seca, GIM = grasa intramuscular, MC = machos castrados, H = hembras enteras, OxiMb = oximioglobina, sem = error estándar de la media. Medias con distintos superíndices difieren P < 0,05.

Tabla 2. Efecto del tipo de alimentación y del sexo sobre la composición en ácidos grasos principales de la grasa intramuscular.

	Líquida	Sólida	sem	MC	H	sem	P ali	P sexo
n	21	21		25	17			
C16:0	23,40 ^a	24,22 ^b	0,22	24,24 ^a	23,38 ^b	0,22	0,013	0,01
C18:0	12,38 ^a	13,39 ^b	0,26	13,15	12,61	0,26	0,010	0,17
C18:1 n-9	43,31 ^a	41,81 ^b	0,43	42,83	42,29	0,42	0,02	0,39
C18:2 n-6	5,82	6,43	0,23	5,71 ^a	6,53 ^b	0,22	0,065	0,017
SAT	37,84 ^a	39,70 ^b	0,42	39,50 ^a	38,05 ^b	0,41	0,003	0,020
MUFA	52,07 ^a	49,45 ^b	0,47	50,96	50,57	0,47	0,0003	0,57
PUFA	10,09	10,84	0,57	9,55	11,38	0,56	0,35	0,03

n = n° de observaciones, MC = machos castrados, H = hembras enteras, SAT, MONO y POLI = suma del total de ácidos grasos saturados (SAT) monoinsaturados (MONO) y poliinsaturados (POLI), sem = error estándar de la media. Medias con distintos superíndices difieren P < 0,05.

EFFECTO DE LA INCLUSIÓN DE DISTINTAS GRASAS EN EL PIENSO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA CARNE DE PORCINO

Alonso, V., Provincial, L., Guillén, E., Gil, M., Roncalés, P. y Beltrán, J.A.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza,
Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España. veroalon@unizar.es; jbeltran@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La manipulación de la composición en ácidos grasos del músculo y de los tejidos grasos ha sido de gran interés en los últimos años para producir carne con deseables cualidades nutricionales y tecnológicas (Wood *et al.*, 2003). Una de las estrategias utilizadas ha sido el cambio de la fuente de grasa adicionada al pienso pasando de grasas animales (más monoinsaturadas) hacia grasas vegetales (más poliinsaturadas) (Rosenvold & Andersen, 2003). Este cambio podría afectar a la calidad de la grasa del cerdo, debido a que parte de esta grasa de la dieta es directamente incorporada en los tejidos del cuerpo de los monogástricos y es bien conocido que la composición en ácidos grasos del tejido adiposo es un reflejo de la dieta (Corino *et al.*, 2002). Por lo tanto, sería posible producir carne de cerdo más sana por el cambio de la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular, la cual satisfaría las expectativas de los consumidores de un producto saludable (Alonso *et al.*, 2010). El objetivo de este estudio fue comparar los efectos de la inclusión de aceite de palma, aceite de soja y grasa animal en el pienso sobre el porcentaje y el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular y subcutánea en la carne de cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se criaron 43 machos enteros alimentados con distintos piensos en los últimos dos meses del cebo. Estos piensos fueron isoproteicos y formulados con distintas grasas y porcentajes: control (sin grasa añadida), grasa animal (1% y 3%), aceite de soja (1%) y aceite de palma (1%, Magnapac®). La genética de los lotes fue Large White x Landrace en la línea madre y Pietráin como macho finalizador. Las canales utilizadas se encontraban en un rango de peso de 83,8±6,3 kg. Se realizó el muestreo en el músculo *Longissimus thoracis et lumborum* (LTL) y en la grasa subcutánea a nivel de las costillas torácicas, siendo congeladas las muestras hasta su análisis. Éstas fueron descongeladas y picadas y la grasa fue extraída mediante la mezcla de cloroformo-metanol con BHT como antioxidante (Bligh & Dyer, 1959), siendo calculado el porcentaje de grasa intramuscular (GIM) mediante este método. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES) se obtuvieron usando una disolución de KOH en metanol. Los FAMES se analizaron en un cromatógrafo de gases HP-6890 II, con una columna capilar SP-2380 (100 m x 0.25 mm x 0.20 µm), usando como gas portador el nitrógeno. Los datos fueron analizados por el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS (2005) incluyendo en el modelo los diferentes piensos como efecto principal para los parámetros a estudio. Las diferencias fueron consideradas significativas si $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El porcentaje de GIM fue mayor en el grupo Grasa Animal al 3% (GA3) y menor en los grupos Aceite de Soja al 1% (AS1), quedando el grupo Control, Grasa Animal al 1% (GA1) y Aceite de Palma al 1% (AP1) en posición intermedia (Tabla 1). Las diferencias entre los piensos formulados con distintas grasas fueron significativas cuando comparamos las concentraciones de los principales ácidos grasos en la GIM (Tabla 1). Los ácidos grasos saturados predominantes como son el ácido palmítico (C16:0) y el ácido esteárico (C18:0) no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos y, por lo tanto, tampoco se encontraron en el porcentaje total de ácidos grasos saturados (AGS). Sin embargo, en la proporción de ácido oleico (C18:1 *n-9*) y en el total de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) sí que se encontraron diferencias, siendo el tratamiento AS1 el que menor porcentaje presentó. Esto probablemente sea debido a que el Aceite de Soja aporta un porcentaje bastante inferior de ácido oleico (aprox. 50 % menos) que la Grasa Animal o el Aceite de Palma (FEDNA, 2003). Los porcentajes de los ácidos linoleico (C18:2 *n-6*) y α -linolénico (C18:3 *n-3*) fueron mayores en el pienso formulado con AS1, probablemente debido a que este aceite es muy rico en ambos ácidos grasos (FEDNA, 2003). El porcentaje del ácido araquidónico (C20:4 *n-6*) fue diferente significativamente entre los tratamientos

siendo el grupo AS1 el que obtuvo mayor valor y el grupo GA3 el menor. En la suma total de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), tanto de omega 6 (*n-6*) como de omega 3 (*n-3*), el tratamiento AS1 fue el que presentó mayores porcentajes con respecto al resto. Los dos índices relacionados con la salud humana también están incluidos en la Tabla 1. El primero de ellos es el índice AGPI/AGS, el cual según el UK Department of Health (1994) debería ser superior a 0,4 para que esa carne tuviera un valor nutricional adecuado. Entre los grupos estudiados se han encontrado diferencias significativas en relación a este índice, siendo el grupo AS1 el que tuvo el mayor valor y que además superó al recomendado anteriormente. Por otro lado, este mismo departamento estableció que el límite del índice *n-6/n-3* debía ser inferior a 4. Como era de esperar es muy elevado en todos los grupos, ya que es muy difícil reducirlo en los cerdos debido al alto contenido de C18:2 *n-6* que ingieren con los cereales de la dieta, produciendo un indeseable aumento del valor de este índice (Wood et al., 2003). Los tratamientos con aceites vegetales (AS1 y AP1) presentaron los mayores valores con respecto al grupo Control, quedando los grupos con grasa animal en posición intermedia.

Tabla 1. Composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular (% de ácidos grasos totales) del músculo LTL.

	Control	G. Animal 1%	G. Animal 3%	A. Soja 1%	A. Palma 1%	SED	Sign.
N	8	10	10	9	6		
GIM (%)	2,30ab	2,15ab	2,51b	1,79a	2,06ab	0,34	*
C16:0	22,88	22,77	22,91	22,15	22,96	0,57	ns
C16:1	3,36b	3,37b	3,63b	2,88a	3,24ab	0,32	*
C18:0	11,02	10,25	10,40	10,67	10,17	0,56	ns
C18:1 <i>n-9</i>	41,01b	40,10b	40,60b	37,55a	40,14b	1,58	*
C18:2 <i>n-6</i>	8,97a	10,03a	9,75a	13,32b	10,38a	1,36	***
C18:3 <i>n-6</i>	0,09ab	0,10b	0,07a	0,09b	0,09ab	0,01	*
C18:3 <i>n-3</i>	0,35a	0,38a	0,40a	0,48b	0,39a	0,03	***
C20:4 <i>n-6</i>	2,00ab	2,36ab	1,81a	2,70b	2,29ab	0,46	*
C20:5 <i>n-3</i>	0,11a	0,13ab	0,11a	0,16b	0,12ab	0,03	*
C22:6 <i>n-3</i>	0,14	0,16	0,14	0,19	0,16	0,03	ns
AGS	35,87	35,02	35,34	34,64	35,01	1,01	ns
AGMI	50,14b	49,36b	50,21b	45,66a	49,13b	1,97	**
AGPI	12,86a	14,44a	13,42a	18,45b	14,68a	2,00	**
<i>n-6</i>	11,72a	13,18a	12,27a	16,91b	13,47a	1,84	**
<i>n-3</i>	1,12a	1,24a	1,14a	1,53b	1,20a	0,16	**
AGPI/AGS	0,36a	0,41a	0,38a	0,53b	0,42a	0,06	**
<i>n-6/n-3</i>	10,45a	10,61ab	10,77abc	11,03bc	11,19c	0,34	*

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias; ns = $p > 0,1$; t = $p \leq 0,1$; * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$.

La composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea (GSC) se muestra en la Tabla 2. Los tratamientos Control y AP1 mostraron una ligera tendencia a presentar unos mayores porcentajes de C16:0 que el tratamiento AS1. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para los porcentajes de C18:0 y AGS. Tanto el ácido oleico como la suma total de AGMI tuvieron el menor porcentaje en el grupo AS1 en comparación al resto. En cuanto a los ácidos grasos poliinsaturados, tanto el ácido linoleico como el α -linolénico tuvieron los mayores porcentajes en el grupo AS1. Al analizar la suma de los poliinsaturados, tanto en *n-6* como en *n-3*, encontramos resultados similares a los anteriores, donde el grupo con Aceite de Soja tuvo el mayor porcentaje. Los índices relacionados con la salud mostraron también diferencias significativas entre los tratamientos. El índice AGPI/AGS fue mayor en el tratamiento AS1, debido a que ese aceite produjo una mayor poliinsaturación de la grasa. En lo referente al índice *n-6/n-3*, los mayores valores los encontramos en los animales que ingirieron pienso con AP1 mientras que los menores valores fueron en los que comieron pienso con AS1. En conclusión, el pienso con aceite de soja al 1% fue el que produjo las mayores diferencias entre los tratamientos, siendo éste el

que dio lugar al menor porcentaje de GIM. Además, dio lugar a una grasa tanto intramuscular como subcutánea menos monoinsaturada y más poliinsaturada. Además, obtuvo los índices AGPI/AGS más favorables en comparación al resto de los tratamientos en ambos tipos de grasas. El peor índice $n-6/n-3$ en ambas grasas fue proporcionado por el aceite de palma al 1%.

Tabla 2. Composición en ácidos grasos de la grasa subcutánea (% de ácidos grasos totales).

	Control	G. Animal 1%	G. Animal 3%	A. Soja 1%	A. Palma 1%	SED	Sign.
N	7	10	10	9	6		
GSC (%)	56,08	53,79	55,26	55,28	57,19	2,85	ns
C16:0	23,02b	22,55ab	22,78ab	21,92a	23,21b	0,68	t
C16:1	2,00b	2,06b	2,21b	1,72a	2,00b	0,16	***
C18:0	13,69	13,00	12,39	12,92	12,88	0,65	ns
C18:1 $n-9$	38,08b	37,82b	38,62b	36,04a	38,43b	1,00	**
C18:2 $n-6$	13,74a	14,58a	13,97a	18,15b	14,34a	1,14	***
C18:3 $n-6$	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,01	ns
C18:3 $n-3$	0,82a	0,89a	0,85a	1,28b	0,84a	0,07	***
C20:4 $n-6$	0,28ab	0,32b	0,26a	0,29ab	0,30ab	0,03	*
C20:5 $n-3$	0,03ab	0,03b	0,02a	0,03ab	0,03b	0,01	*
C22:6 $n-3$	0,07	0,07	0,05	0,06	0,07	0,01	ns
AGS	38,96	37,96	37,51	36,89	38,22	1,14	ns
AGMI	44,36b	44,34b	45,56b	41,45a	44,51b	1,13	***
AGPI	16,00a	16,97a	16,19a	21,04b	16,61a	1,28	***
$n-6$	14,80a	15,68a	14,98a	19,33b	15,40a	1,19	***
$n-3$	1,19a	1,28a	1,19a	1,69b	1,20a	0,09	***
AGPI/AGS	0,41a	0,45a	0,43a	0,57b	0,44a	0,04	***
$n-6/n-3$	12,48bc	12,30b	12,57bc	11,39a	12,84c	0,30	***

Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre las medias; ns = $p > 0,1$; t = $p \leq 0,1$; * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso, V., Campo, M. M., Provincial, L., Roncalés, P., & Beltrán, J.A. 2010. *Meat Sci.* 85: 7-14.
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. 1959. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917.
- Corino, C., Magni, S., Pagliarini, E., Rossi, R., Pastorelli, G., & Chiesa, L.M. 2002. *Meat Sci.* 60: 1-8.
- Department of Health 1994. Nutritional aspects of the cardiovascular disease.
- FEDNA 2003. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos
- Rosenvold, K. & Andersen, H. J. 2003. *Meat Sci.* 64: 219-237.
- Wood, J. D., Richardson, R. I., Nute, G. R., Fisher, A. V., Campo, M. M., Kasapidou, E., et al. 2003. *Meat Sci.* 66: 21-32.

EFFECT OF DIETARY FAT SOURCES ON PORK FATTY ACID COMPOSITION

ABSTRACT. This study compared the influence of dietary fat sources on intramuscular and subcutaneous fatty acid composition in pork. The animals were fed diets containing control (without added fat), animal fat (1% (AF1); 3% (AF3)), soya oil (1% (SO1)) and palm oil (1% (PO1)). Finisher diets were based on corn, barley and wheat grain and soybean meal 44 % (CP). Pork samples were removed from *Longissimus thoracis et lumborum* muscle and subcutaneous fat (SCF). There were no significant differences in the concentration of total saturated fatty acids (SFA) in intramuscular fat (IMF) and SCF between treatments. The proportion of monounsaturated fatty acids (MUFA) was significantly lower in SO1 group, whereas this group was the highest values in the concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFA) and PUFA/SFA (P/S) index in IMF and SCF. The worst $n-6/n-3$ ratio value was found in AP1 group in both types of fats.

Keywords: Dietary fat, Fatty acid composition, Pork.

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON MAGNESIO SOBRE LA VALORACIÓN VISUAL DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO ENVASADA EN ATMÓSFERA MODIFICADA

Alonso, V., Provincial, L., Gil, M., Guillén, E., Roncalés, P. y Beltrán, J.A.
Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza,
Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza, España. veroalon@unizar.es; jbeltran@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Uno de los parámetros más importantes en la calidad de la carne fresca es el aspecto o el color de la carne (Risvik, 1994). Sin embargo, muy pocos investigadores han utilizado un panel entrenado para la evaluación visual del color de ésta (O'Sullivan *et al.*, 2003). Por otro lado, las considerables mermas de agua, las cuales son el resultado de varias anomalías genéticas, del manejo y de otros factores, pueden producir grandes pérdidas económicas en la industria del procesado de la carne. Por lo tanto, se han realizado algunos estudios que han concluido que la suplementación con magnesio, por encima de los niveles nutricionales requeridos por los cerdos en los últimos días antes del sacrificio, mejoraba el color y la capacidad de retención de agua (D'Souza *et al.*, 1998; 2000; Hamilton *et al.*, 2003). El envasado en atmósfera modificada es actualmente la manera más común de envasar en los supermercados (Luño *et al.*, 1998) y se utiliza para maximizar la vida útil de la carne y mantener su apariencia atractiva (Viana *et al.*, 2005). En resumen, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación de la dieta con diferentes fuentes de magnesio sobre la calidad de la carne de cerdo envasada en atmósfera modificada.

MATERIAL Y MÉTODOS

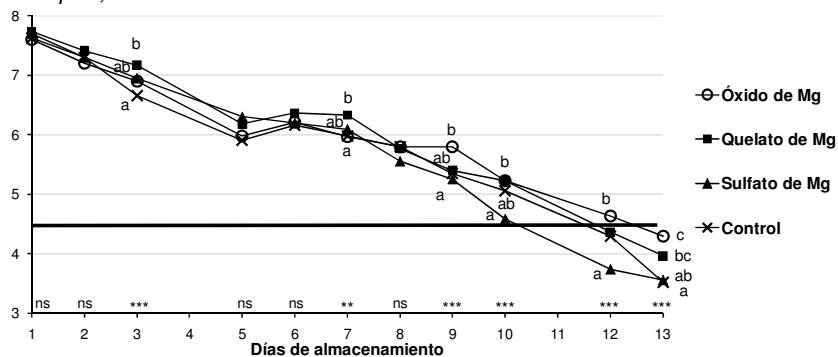
Para el estudio se criaron 40 cerdas (Px(LRxLW)) que fueron alimentadas con la misma dieta basal y sometidas a las mismas condiciones de manejo. Fueron asignadas aleatoriamente a cuatro tratamientos (10 animales/grupo) que consistieron en la suplementación con diversas fuentes de magnesio (Mg) durante los últimos 5 días antes del sacrificio: (1) Dieta control (DC) (sin suplementación); (2) DC + Óxido de Mg (5 g/cerdo/día (50% Mg)); (3) DC + Sulfato de Mg (12,5 g/cerdo/día (20% Mg)); y (4) DC + Quelato de Mg (11,7 g/cerdo/día (21,4 % Mg)). Todos los animales fueron sacrificados el mismo día y el tiempo de espera antes del sacrificio fue de 2 horas. El peso vivo aproximado fue 107 kg. Se obtuvo el músculo *Longissimus lumborum* (LL) de cada uno de los animales inmediatamente después del despiece. Transcurridas 24 h a 4[±]1 °C, el músculo LL fue cortado en 6 filetes de 2 cm de grosor. Cada uno de los filetes fue envasado en atmósfera modificada (80 % O₂/ 20 % CO₂) y mantenido a 4[±]1 °C en condiciones estándar de iluminación (14 horas/día) durante 13 días. Las muestras fueron evaluadas por un panel de 9 miembros, los cuales habían sido entrenados en evaluación sensorial y estaban familiarizados con la evaluación visual de carne de cerdo. Los panelistas utilizaron una escala de 8 puntos para cuantificar los atributos de color y aceptabilidad global (1=muy desagradable a 8=muy agradable) y una escala de 5 puntos para el exudado (1=no exudativa a 5=muy exudativa). Se estableció que el límite de aceptabilidad en el color y en la aceptabilidad global fuera el valor 4,5, por debajo del cual las muestras serían rechazadas para la compra. Durante los 13 días que duró el experimento, los panelistas evaluaron 40 muestras codificadas cada día que fueron mantenidas en refrigeración en las mismas condiciones de iluminación. El tratamiento estadístico de los resultados se realizó mediante el análisis de la varianza con el modelo GLM en el paquete estadístico SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mantener un color atractivo en la carne es muy importante ya que el color es el primer atributo que los consumidores utilizan para evaluar la calidad de la carne y, por lo tanto, juega un papel principal en las decisiones de compra (Viana *et al.*, 2005). Debido a esto el color fue uno de los atributos evaluados durante el almacenamiento (Figura 1). El color de las muestras procedentes de cerdos suplementados con quelato de Mg obtuvo generalmente las puntuaciones más altas durante todos los días del almacenamiento. El tratamiento con óxido de Mg obtuvo también altas valoraciones pero a partir del día 9. Sin embargo, el tratamiento con sulfato de Mg fue el peor valorado a partir del día 8 hasta el final del experimento. Como puede observarse en la siguiente figura, se produjo un

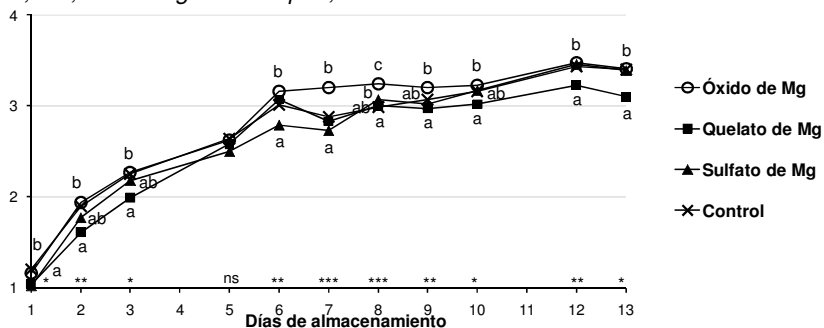
descenso en las valoraciones del color a lo largo de los días del estudio, alcanzándose aproximadamente al día 10 el límite de aceptabilidad en el color para el tratamiento con sulfato de Mg, al día 11 para los tratamientos con quelato de Mg y control y al día 12 para el tratamiento con óxido de Mg.

Figura 1. Evolución de la valoración visual del color a lo largo de 13 días de almacenamiento para cada uno de los tratamientos. Significación: ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$; ns: No significativa $p > 0,1$.



Las puntuaciones de la evaluación visual del exudado están representadas en la Figura 2. Los tratamientos con sulfato de Mg y quelato de Mg hasta el día 5. Además, se puede observar que el grupo suplementado con óxido de Mg es el que obtuvo mayores puntuaciones en cantidad de exudado con respecto al resto de grupos a lo largo de los días de almacenamiento. Por el contrario, el tratamiento con quelato de Mg fue valorado con las menores puntuaciones desde el día 11 al 13 de almacenamiento, mientras que el resto de los tratamientos tuvieron valoraciones similares pero más altas. De acuerdo con los resultados mostrados anteriormente la valoración del exudado incremento gradualmente hasta el día 6, pero posteriormente este incremento fue mucho más lento.

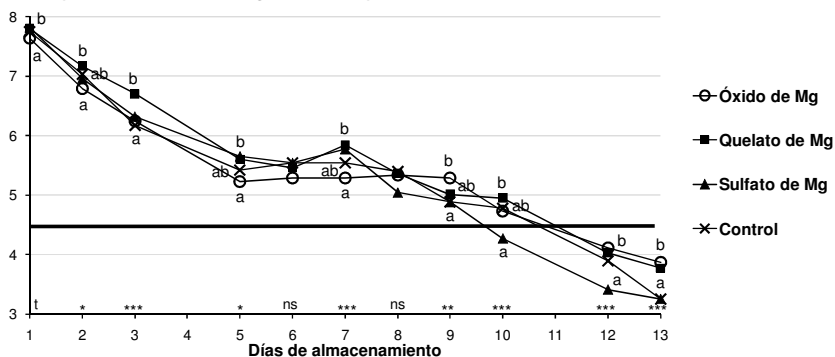
Figura 2. Evolución de la valoración visual del exudado a lo largo de 13 días de almacenamiento para cada uno de los tratamientos. Significación: * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$; ns: No significativa $p > 0,1$.



La aceptabilidad global fue definida para los panelistas como una valoración media de los dos atributos evaluados anteriormente (color y exudado). En la Figura 3 se representa la aceptabilidad global de cada uno de los tratamientos. El tratamiento con óxido de Mg fue el peor evaluado durante los primeros 7 días. Esto probablemente es debido a que fue el tratamiento que presentó las mayores puntuaciones en el atributo exudado en esos días y a los consumidores no les parece atractiva la carne envasada que contiene una gran cantidad de exudado en la bandeja (McMillin, 2008). Sin embargo, a partir del día 9 de almacenamiento este tratamiento mantiene un color mejor con respecto a los otros y a pesar de que tenga mucho exudado, la aceptabilidad global es positiva. El grupo suplementado

con quelato de Mg mantiene unas puntuaciones aceptables a lo largo de todos los días del estudio. En cuanto al tratamiento con sulfato de Mg, comienza teniendo valoraciones generales altas pero al llegar al día 8 éstas descienden gradualmente. Esto quizá sea debido a que a partir de ese día se produjo un descenso también en las valoraciones del color. Por otro lado, el tratamiento control obtuvo puntuaciones intermedias durante casi todo el estudio. De acuerdo con la figura 3, las bandejas del tratamiento con sulfato de Mg serían compradas hasta el día 9 y las de los otros tratamientos hasta el día 11.

Figura 3. Evolución de la valoración visual de la aceptabilidad global a lo largo de 13 días de almacenamiento para cada uno de los tratamientos. Significación: $t = p \leq 0,1$; * = $p \leq 0,05$; ** = $p \leq 0,01$; *** = $p \leq 0,001$; ns: No significativa $p > 0,1$.



En conclusión, la suplementación con quelato de Mg obtuvo las mejores valoraciones en los tres atributos, mientras que las peores valoraciones en color y aceptabilidad global fueron para la suplementación con sulfato de Mg y las peores en exudado fueron para las suplementación con óxido de Mg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D'Souza, D. N., Warner, R. D., Leury, B. J., & Dunshea, F. R. 1998. *J. Anim. Sci.* 76: 104-109.
- D'Souza, D. N., Warner, R. D., Leury, B. J., & Dunshea, F. R. 2000. *Aust. J. Agr. Res.* 51: 185-189.
- Hamilton, D. N., Ellis, M., McKeith, F. K., & Eggert, J. M. 2003. *Meat Sci.* 65: 853-857.
- Luño, M., Beltrán, J. A., & Roncalés, P. 1998. *Meat Sci.* 48: 71-84.
- McMillin, K. W. 2008. *Meat Sci.* 80: 43-65.
- O'Sullivan, M. G., Byrne, D. V., & Martens, M. 2003. *Meat Sci.* 63: 119-129.
- Risvik, E. 1994. *Meat Sci.* 36: 67-77.
- Viana, E. S., Gomide, L. A. M., Vanetti, M. C. D. 2005. *Meat Sci.* 71: 696-705.

EFFECT OF DIETARY MAGNESIUM SUPPLEMENTATION ON SENSORY VISUAL ASSESSMENT OF PORK MEAT PACKAGED IN MODIFIED ATMOSPHERE

ABSTRACT. This study compared the effect of dietary magnesium supplementation on sensory visual assessment of pork meat quality during 13 days of storage at $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ under modified atmosphere conditions (80 % O_2 /20 % CO_2). The experiment was conducted with 40 female pigs (Pietrain x (Landrace x Large White)) which were fed with four diets during the last 5 days prior to slaughter: (1) control diet with no supplement (2) magnesium oxide (5 g/pig/day), (3) magnesium sulphate (12.5 g/pig/day) and (4) magnesium chelate (11.7 g/pig/day) (consisting of 2.5 g elemental Mg). The sensory visual assessment of pork meat from pigs supplemented with Mg chelate generally obtained high colour and low exudative scores, so had acceptable overall acceptance scores throughout display. In contrast, the worst visual colour and overall acceptance evaluation was in Mg sulphate treatment and the worst visual exudative assessment was in Mg oxide. Based on the results from this experiment, dietary magnesium chelate supplementation could be effective in improving sensory visual assessment of pork meat quality during 13 days of storage under modified atmosphere conditions.

Keywords: Magnesium, Modified atmosphere packaging, Sensory visual assessment.

INFLUENCIA DE LA UTILIZACIÓN DE BICARBONATO SÓDICO EN EL PIENSO Y AGUA DE BEBIDA SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO

Lizardo, R., Salomó, J., Gispert, M., Esteve-García, E. y Brufau, J.
IRTA - Nutrición de Monogástricos, Ctra Reus-El Morell km 3.8, 43120 Constantí
rosil.lizardo@irta.es

INTRODUCCIÓN

El equilibrio hidro-electrolítico del organismo se basa en mecanismos de regulación que permiten utilizar el agua y los electrolitos (Na^+ , K^+ , Cl^- y HCO_3^-) suministrados por los alimentos. Estos influyen igualmente en el equilibrio ácido-base del cerdo (Patience y Wolynetz, 1990) y su poder acidogénico o alcalinogénico se puede evaluar a partir del balance entre cationes y aniones o más habitualmente, a través del balance electrolítico (BE; Mongin, 1981). Al sacrificio, todo y cualquier factor que produzca estrés al animal puede modificar el metabolismo muscular, el estado de las reservas de glucógeno en particular, con consecuencias sobre la velocidad de acidificación post-mortem, la transformación del músculo en carne y los diferentes criterios de calidad. El equilibrio ácido-base ante-mortem y por extensión, el BE del alimento puede en consecuencia afectar la calidad de la carne del cerdo, en particular de los más sensibles al estrés.

La generalización del uso de cerdos machos enteros hipermusculosos en la producción actual ha llevado al aumento de las carnes PSE. Un cambio en las condiciones previas al sacrificio, en particular la aplicación de bicarbonato sódico en el agua de bebida (12.6g/L) parecen evitar ese descenso tan rápido de pH, mejorando la calidad de la carne en los cerdos sensibles al stress (Ahn *et al.*, 1992; Boles *et al.*, 1994).

La incorporación de bicarbonato sódico y el consiguiente aumento del BE de los piensos ha conducido a una mejora significativa de la calidad de la canal y una reducción de las pérdidas de agua por goteo durante el despiece (Dourmad y Lebret, 2000).. En otro estudio no se observaron diferencias en estos parámetros, pero se observó un mejor rendimiento de canal y una mayor superficie del jamón en los cerdos que habían sido alimentados con piensos conteniendo bicarbonato sódico (Latorre *et al.*, 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 144 cerdos Landrace*Duroc, machos enteros, distribuidos en 12 bloques en base al peso vivo. Los animales fueron alojados a 4 por corral en una sala de 36 corrales equipada con control automático de ventilación y temperatura, y con un suelo emparrillado total. Los piensos experimentales fueron formulados en base a un contenido de 3180 kcal/kg de energía metabolizable y 7,40 g/kg de lisina digestible respectivamente. Los tratamientos experimentales correspondieron a 3 dietas cuyo BE se ajustó con bicarbonato sódico (Bicar[®]Z, Solvay, España) a 140, 200 y 280 mEq/kg. Al final del engorde, se eligieron 48 cerdos machos al azar (16 por tratamiento) para sacrificio en matadero experimental. Todavía en granja, estos cerdos se dividieron en 2 grupos, a los cuales se les suministró bicarbonato sódico en el agua de bebida (6 g/L) o agua normal (0.3 g/L) durante 15 días antes del sacrificio. Estos tratamientos en el agua de bebida se realizaron en granja y se mantuvieron hasta el mismo momento del sacrificio. Los animales se transportaron por separado el día anterior y se alojaron en los corrales de espera en matadero según los mismos grupos para evitar interferencias ante-mortem en los parámetros de calidad de la canal y/o de la carne. Estos parámetros fueron medidos en canal caliente y fría (24h); las medidas de pH y conductividad eléctrica se realizaron sobre la media canal izquierda y los músculos *Longissimus thoracis* (LT) y *Semimembranosus* (SM). Las pérdidas de agua por goteo se determinaron sobre el músculo LT según el método de Rasmussen and Andersen (1996).

Los datos experimentales fueron analizados según el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los los parámetros de rendimiento al sacrificio, el peso canal o el porcentaje de magro no fueron afectados por el BE de los piensos. No obstante, se ha observado un marcado efecto del nivel de bicarbonato en el agua de bebida sobre el pH de la orina, lo cual indica que efectivamente los animales lo estaban consumiendo, metabolizando y excretando el exceso. Se ha igualmente observado que el bicarbonato sódico en el agua incrementaba el rendimiento y el peso canal caliente y fría (Tabla 1). En cuanto a los parámetros de calidad de la carne medidos sobre el jamón o el lomo, se ha observado un fuerte efecto del BE de los piensos pero no del bicarbonato en el agua de bebida (Tabla 1). Así, parece ser que los cerdos machos alimentados con piensos con un BE bajo conducirían a la obtención de canales con carne de marcada tendencia ácida (pH<5.6). Al cambiar a piensos con BE más elevado, aumenta el pH 24 tanto del lomo como del jamón y se obtendrían canales con características cárnicas normales. Una conclusión similar se podría deducir de los valores de conductividad eléctrica medida sobre el jamón. Por otro lado y quizás el resultado más relevante del estudio, ha sido el efecto del BE de los piensos sobre las pérdidas de agua por goteo de la carne o “drip loss”. Con los piensos de BE más elevado, estas pérdidas se reducirían a cerca de la mitad. Este resultado es no solo importante a nivel tecnológico (pérdidas de agua a la cocción) pero también visual, una vez que se reduciría el agua en las bandejas de carne de los expositores de carnicerías y supermercados. Finalmente, el hecho de suministrar bicarbonato sódico en el agua de bebida en los días previos al sacrificio no parece afectar, al menos en las condiciones del estudio realizado, los parámetros de calidad de la carne. Este resultado es un poco sorprendente y no confirma los resultados previos de los investigadores canadienses (Ahn *et al.*, 1992; Boles *et al.*, 1994) pero estos han trabajado con cerdos machos Pietrain halotano positivos, sensibles al stress y esto de alguna forma puede justificar las diferencias entre estudios.

Tabla 1. Influencia del BE del pienso y de la incorporación de bicarbonato sódico en el agua de bebida sobre los parámetros de calidad de la canal y de la carne.

	BE de los piensos		Bicarbonato en el agua			Estadística		
	141 mEq/kg	197 mEq/kg	280 mEq/kg	275 mg/L	6.05 g/L	dEB	Agua	DTR
pH de la orina	7,03	7,11	7,20	6,81b	7,42a	NS	0,001	0,42
Peso canal, kg	78,4	78,2	78,2	77,8b	78,8a	NS	0,01	1,19
Rendimiento, %	78,9	78,7	78,8	78,4	79,3	NS	0,02	1,24
Carne magra, %	52,3	52,8	52,7	52,7	52,5	NS	NS	2,30
Peso canal fría, kg	76,2	75,9	75,9	75,5	76,5	NS	0,01	1,17
Oreo, %	2,86	2,91	2,93	2,90	2,89	NS	NS	0,16
Jamón (<i>Semimembranosus</i>)								
pH 45min	6,37	6,30	6,30	6,33	6,32	NS	NS	0,17
pH 24h	5,53b	5,64a	5,60ab	5,58	5,59	0,04	NS	1,04
Cond. eléctrica 24h	6,46b	7,25a	7,37a	6,84	6,72	0,04	NS	1,04
Lomo (<i>Longissimus thoracis</i>)								
pH 45min	6,45	6,46	6,42	6,45	6,44	NS	NS	0,19
pH 24h	5,54b	5,70a	5,63a	5,61	5,63	0,01	NS	0,11
Cond. eléctrica 24h	5,70	5,31	6,07	5,69	5,70	NS	NS	1,50
Drip loss	2,27a	1,22b	1,39b	1,75	1,51	0,02	NS	1,05

En cerdos en crecimiento, los mejores resultados productivos se obtienen con valores de BE comprendidos entre 200 y 250 mEq/kg de pienso. Además, estos valores de BE parecen conducir a la obtención de canales con características cárnicas más adecuadas (pH24 normal) y menos propensas a perder agua durante la transformación (cocción, exposición en bandeja, etc...).

Por otro lado, la aplicación de bicarbonato sódico en el agua de bebida en los días previos o en los corrales de espera en matadero parece ser que podría contribuir a la obtención de un mejor rendimiento y canales más pesadas pero este resultado necesita confirmación en otros estudios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahn D.U., Patience J.F., Fortin A., McCurdy A., 1992.. Meat Sci., 32: 65-79.
- Boles J.A., Patience J.F., Schaefer A.L., Aalhus J.L. ;1994. Meat Sci., 37: 181-194.
- Dourmad, J. Y., B. Lebret. 2000. Journées Rech Porc 32: 163-168.
- Latorre M.A., Acedo-Rico J., Medel P., Mateos G.G.; 2000. III Conferencia de Piensos del Mediterráneo, Reus.
- Mongin P.; 1981. In: Recent Advances in Animal Nutrition, Ed. W. Haresign, Butterworths, London, 109-119
- Patience J.F., Wolynetz M.S.; 1990. J. Nutr. 120: 579-587.

INFLUENCE OF DIETARY AND WATER SODIUM BICARBONATE ON PIGMEAT QUALITY

ABSTRACT. An experiment was conducted to study the effect of dietary electrolytic balance (dEB) and addition of sodium bicarbonate to drinking water on carcass and meat quality of pigs. Sodium bicarbonate was used to adjust dEB to 140, 200 and 280 mEq/kg for T1, T2 and T3, respectively. 144 Landrace*Duroc male pigs were allocated at 4 per pen and used until 105 kg liveweight. At the end pigs were kept in the same pens and diets for a week during which sodium bicarbonate rich water was supplied to a half of them. Therefore the experimental design was split in a factorial 2x3 and treated water was administered until slaughter. Forty-eight pigs were selected and sent to the slaughterhouse in order to evaluate the effect of experimental treatments on carcass and meat quality parameters. Enriched water significantly increase urine pH, hot and cold carcass weight and killing-out percentage ($P<0.01$). However did not affect fat or loin depth, lean meat percentage or chilling losses as well as meat quality parameters. pH of muscles *Semimembranosus* (SM) or *Longissimus thoracis* (LT) measured at 45 min were not affected by dEB. However meat pH measured after 24 h statistically increased in both SM ($P<0.01$) and LT muscles ($P<0.05$). Pigs fed with low dEB showed a pH indicating meat with a tendency to become acid ($5.5<pH<5.6$) whereas meat from pigs of the other 2 groups has good ability to be consumed fresh or transformed. Electrical conductivity of SM muscle also indicated better meat quality of pigs fed medium and high dEB ($P<0.05$). Drip loss from the meat was also strongly reduced as a consequence of dEB ($P<0.02$). Meat from pigs fed low dEB lost the double of water than meat from pigs fed medium or high dEB. It can be concluded that dEB supplementation could positively affect meat quality parameters like pH 24h, electrical conductivity or drip losses. All these parameters were improved using finishing diets with a medium (200 mEq/kg) or high dEB (280 mEq/kg). Sodium bicarbonate in drinking water before slaughter did not seem to affect meat quality parameters. Nevertheless, it seems that it could improve carcass weight or killing-out percentage but those results need to be confirmed in other trials.

Keywords: sodium bicarbonate, dietary electrolytic balance, pigmeat, drip loss

INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN FOSFÓRICA Y DE LA ESTACIÓN DE PASTOREO SOBRE LA COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS DE LA LECHE DE VACAS DE RAZA AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA

Daza, A. ¹, López-Carrasco, C. ², Rey, A.I. ³ y López-Bote, C.J. ³

¹ Departamento de Producción Animal. ETS de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica. 28040. Madrid. ² CIA “El Dehesón del Encinar” Junta de Comunidades de Castilla-la Mancha, Oropesa, Toledo. ³ Departamento de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. 28040. Madrid.

argimiro.daza@upm.es

INTRODUCCIÓN

No se dispone de suficiente información sobre la composición en ácidos grasos de la leche de vacas de razas autóctonas del ecosistema de la Dehesa ni sobre la influencia que pudiera tener sobre tal composición la fertilización del pasto con distintas fuentes de fósforo y la estación de pastoreo y suplementación alimenticia. Como quiera que la composición en ácidos grasos de la leche puede afectar a la calidad de la grasa de los terneros (Moreno et al., 2006), en el presente experimento se estudia el efecto de los factores señalados sobre la composición en ácidos grasos de la leche de vacas de raza Avileña-Negra Ibérica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 36 vacas múltiparas de raza Avileña-Negra Ibérica del rebaño de la CIA “El Dehesón del Encinar” de la Junta de Comunidades de Castilla –La Mancha, Oropesa, Toledo. Las vacas se distribuyeron en seis parcelas (seis vacas por parcela) según tres tratamientos (dos parcelas por tratamiento): pasto natural sin fertilizar (PN), pasto natural fertilizado con 144 kg/ha de roca fosfórica (RF) y pasto natural fertilizado con 200 kg de superfosfato de cal al 18% (SF) ambos abonados aplicados en otoño después de las primeras lluvias. Durante el periodo enero-junio se tomaron muestras de leche para determinar su contenido en grasa y ácidos grasos. La suplementación alimenticia administrada por vaca, desde enero a principios de abril, correspondiente a los tratamientos PN, RF y SF supuso 152 kg y 22 kg, 115 kg y 18 kg y 115 kg y 16 kg de concentrado y paja de cereales respectivamente. La carga ganadera fue similar en cada tratamiento (0,33 vacas/ha). La grasa de la leche se determinó mediante un Milkoskan y los ácidos grasos se extrajeron por el procedimiento “one-step” descrito por Sukhija y Palmquist (1988) a partir de muestras liofilizadas. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gases (aparato Hewlett-Packard HP-6890, Avondale, PA, USA). Los datos recabados se estudiaron mediante un análisis de varianza que observaba como factores principales el tratamiento y el mes de la estación de pastoreo (de enero a junio) y la interacción entre ambos factores. Además, mediante regresión simple, se estudió la evolución de las proporciones de los ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MONO) y poliinsaturados (POLI) totales con el tiempo. Los análisis se realizaron con la ayuda del paquete estadístico SG-Centurión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción media de pasto obtenida en el periodo enero-junio fue de 1810,4, 2.103,7 y 2.235,0 kg de MS/ha en las parcelas de los tratamientos PN, RF y SF respectivamente. El análisis botánico realizado observó porcentajes de leguminosas, gramíneas y otras plantas (especialmente compuestas) del 13,3, 33,3 y 53,4% respectivamente en el tratamiento PN ; 24,2%, 39,8% y 36% en el RF y 23,0, 41,8 y 35,2 % en el SF.

Ni el abonado con fósforo ni la estación afectaron significativamente al porcentaje de grasa de la leche. Los porcentajes de grasa encontrados en la leche fueron 4,09, 4,26 y 4,31% (sem = 0,10, P >0,05) en las vacas de los tratamientos PN, RF y SF respectivamente. Los porcentajes de grasa en la leche obtenidos desde enero a junio fueron 4,07, 4,09, 4,14, 4,30, 4,34 y 4,39% respectivamente (sem = 0,15, P>0,05)). La leche de las vacas del

tratamiento PN tuvo mayor proporción de SAT y menor proporción de MONO no afectando, el abonado fosfórico, a la proporción de POLI (Tabla 1). La proporción de ácido esteárico (C18:0) fue significativamente ($P < 0,05$) superior en la leche de las vacas del tratamiento PN y la proporción de ácido palmítico tendió ($P < 0,078$) a ser más elevada. En los meses de primavera la leche tuvo mayor proporción de SAT y menor proporción de C18:1 n-9 y de MONO que en los de invierno. La proporción de POLI aumentó desde enero a abril y se redujo, posteriormente, durante mayo y junio.

Tabla 1. Efecto de la fertilización fosfórica y evolución mensual de la composición en ácidos grasos principales de la leche de vacas de raza Avileña-Negra Ibérica.

	C16:0	C18:0	C18:1 n-9	C18:2 n-6	C18:2 n-3	SAT	MONO	POLI
PN	24,67	15,17 ^a	32,09	2,86	1,46	54,03 ^a	39,76 ^a	6,19
R F	24,36	13,54 ^b	32,43	2,74	1,45	51,69 ^b	41,80 ^b	6,48
SF	23,64	13,21 ^b	34,37	2,88	1,42	49,52 ^c	43,86 ^c	6,55
sem	0,31	0,44	0,72	0,053	0,036	0,55	0,51	0,17
Enero	23,65 ^a	15,02	36,43 ^a	2,82	1,29 ^{ab}	49,74 ^b	44,51 ^c	5,72 ^a
Febrero	23,44 ^a	13,27	38,56 ^a	2,76	1,23 ^a	46,31 ^a	47,73 ^d	5,90 ^a
Marzo	23,37 ^a	13,14	35,71 ^a	2,84	1,42 ^b	48,03 ^{ab}	45,14 ^c	6,81 ^b
Abril	23,73 ^a	13,45	27,13 ^b	2,88	1,66 ^c	55,00 ^c	37,26 ^a	7,66 ^c
Mayo	24,51 ^a	14,48	27,27 ^b	2,92	1,87 ^d	57,64 ^d	35,39 ^a	6,92 ^b
Junio	26,66 ^b	14,49	32,68 ^{ab}	2,75	1,21 ^a	53,75 ^c	40,80 ^b	5,42 ^a
sem	0,44	0,62	1,02	0,075	0,051	0,79	0,72	0,23
P trat	0,078	0,009	0,072	0,17	0,70	0,0001	0,0001	0,28
P mes	0,0001	0,20	0,0001	0,58	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
P trat x mes	0,41	0,35	0,29	0,59	0,40	0,54	0,55	0,93

sem = error estándar de la media, SAT, MONO y POLI = suma del total de los ácidos grasos saturados (SAT), monoinsaturados (MONO) y poliinsaturados (POLI). Medias con distintos superíndices difieren $P < 0,05$.

La evolución de las proporciones de los ácidos grasos saturados totales (SAT), monoinsaturados totales (MONO) y poliinsaturados totales (POLI) con el tiempo (t) desde el 14 de enero (t = 0) y el 13 de junio (t = 150) aparecen en la Tabla 2. La relación entre la proporción de SAT y t respondió a una función exponencial, mientras que las relaciones entre las proporciones de MONO y POLI y t se ajustaron a funciones cuadráticas.

Tabla 2. Evolución de las proporciones de los ácidos grasos saturados totales (SAT), monoinsaturados totales (MONO) y poliinsaturados totales (POLI) durante el periodo experimental.

Ecuación de regresión	n	R ²	RSD	P <
SAT = e ^(3,86 + 0,0011 t)	36	0,42	0,072	0,0001
MONO = 47,53 - 0,15 t + 0,00062 t ²	36	0,47	3,75	0,0001
POLI = 5,44 + 0,050 t - 0,00033 t ²	36	0,61	0,61	0,0001

n = pares de valores, R² = coeficiente de determinación, RSD = desviación residual estándar, P = probabilidad.

A tenor de los resultados precedentes parece que la reducción de la suplementación alimenticia (situación de las vacas del tratamiento PN) disminuye los SAT de la leche y aumenta los MONO, resultados acordes con los observados por Morales-Almaraz et al. (2009) en vacas Holstein. Sin embargo, cuando se cotejan los resultados derivados del pastoreo exclusivo (meses de abril, mayo y primera mitad de junio) con los del pastoreo con suplementación (periodo enero marzo) se observa un aumento de los ácidos C18:3 n-3 y POLI en pastoreo exclusivo, lo que concuerda con Vicente et al. (2009) y Morales-Almaraz et al. (2009), pero el aumento paralelo de los SAT y la reducción de los MONO no responde a los resultados obtenidos por los citados autores en vacas lecheras. Puede que la reducción de la concentración energética y de la proteína bruta del pasto de primavera unida al aumento paralelo de la proporción de fibra bruta en fincas de Dehesa (Daza, 2002)

hayan derivado en tales resultados. Como quiera que, además de la evolución de la composición del pasto durante la primavera, puede que tenga influencia el tipo genético se necesitan más trabajos que realizar sobre este tema.

Agradecimientos: A la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha (proyecto JCCM02-207PA-36)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Daza A. 2002. Mejora de la productividad y planificación de explotaciones ovinas. Ed Agrícola Española. Madrid, 232 pp ● Morales-Almaraz et al., 2009. ITEA, Vol I, 289-290 ● Moreno et al., 2006. Meat Science, 73, 209-217 ● Sukhija P.S., Palmquist, D.L. 1988. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 36, 1202-1206 ● Vicente et al., 2009. ITEA, Vol I, 292-294.

INFLUENCE OF PHOSPHORUS FERTILIZATION AND GRAZING SEASON ON MILK FATTY ACID COMPOSITION FROM AVILEÑA-NEGRA IBÉRICA BREED COWS

ABSTRACT.

Thirty-six Avileña-Negra Iberica breed cows were given from January to June to the three following treatments (12 cattle per treatment): grazing on non fertilized pasture (GNF), grazing on fertilized pasture with 144 kg/hc of phosphoric rock (GFR) and grazing on fertilized pasture with 200 kg/hc of calcium superphosphate of 18% (GFS). The milk from GNF cows had higher C18:0, total saturated fatty acids (SFA) and lower total monounsaturated fatty acids (MUFA) than those from GFR and GFS cows. Exclusive grazing without feed supplementation (April and May) increased SFA, C18:3 n-3, total polyunsaturated fatty acids (PUFA) and decreased milk MUFA proportions.

Key words: fatty acids, milk, Avileña-Negra Ibérica breed.

INCIDENCIA DE LA CONTAMINACIÓN POR ESPORAS BUTÍRICAS EN LA LECHE DE TANQUE DE OVEJA MANCHEGA Y SU RELACIÓN CON LA ALIMENTACIÓN ANIMAL Y LAS CONDICIONES HIGIÉNICO-SANITARIAS DE LA GANADERÍA

Arias, C.*, Oliete, B., Pérez-Guzmán, M.D. y Arias, R.

Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA). Avenida del vino, 10.
13300 Valdepeñas (Ciudad Real)

cariasm@jccm.es

INTRODUCCIÓN

El sector ovino lechero en Castilla-La Mancha tiene gran importancia debido a su contribución al desarrollo socioeconómico de la Región, dado que la leche de oveja Manchega es la materia prima para la elaboración del “Queso Manchego” con Denominación de Origen. Por este motivo, el supervisar y asegurar la calidad de la leche utilizada para su elaboración debe ser una prioridad, con el fin de responder a las expectativas del consumidor final.

La prevención de la “hinchazón tardía” en los quesos, es un importante reto tecnológico para el sector quesero. La hinchazón tardía es una alteración de origen microbiano originada por la fermentación del lactato del queso por bacterias del género *Clostridium*, provocando defectos de textura y de aspecto por la formación de gas (Inocente y Corradini, 1996), así como alteraciones organolépticas debido al ácido butírico generado (Senik y cols., 1989; Inocente y Corradini, 1996). El nivel de contaminación de la leche por clostridios está condicionado por el número de esporas presente en la alimentación de las ovejas de ordeño, sobre todo cuando se utilizan ensilados de mala calidad, así como por las condiciones higiénicas de la explotación, en particular de la sala de ordeño (Vissers y cols., 2007).

Ante la situación de las pérdidas económicas que supone este problema en el sector, se ha considerado importante realizar un estudio de la incidencia de esporas de bacterias butíricas en leche de oveja Manchega y su relación con las condiciones higiénico-sanitarias de la explotación y con la alimentación animal, con el fin de contribuir a la mejora de la calidad de leche de oveja, materia prima para la elaboración de queso Manchego.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron entre Marzo de 2008 y Marzo de 2009, con una periodicidad bimensual, un total de 276 muestras de leche de tanque y 138 muestras del alimento de las ovejas en ordeño en 23 ganaderías de Castilla-La Mancha pertenecientes a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Ovino Selecto de raza Manchega (AGRAMA). Las ganaderías se han seleccionado de acuerdo a su tamaño censal y localización geográfica. Las muestras han sido recogidas por personal cualificado, que recopiló información sobre el tipo de alimentación y las condiciones higiénicas de la explotación, siendo trasladadas en condiciones de refrigeración al Laboratorio de Lactología del CERSYRA de Valdepeñas.

El recuento de bacterias butíricas se ha realizado por el método estadístico del Número Más Probable (NMP). Para realizar este método se ha seguido el procedimiento descrito por el USDA (2003). El medio utilizado es el Bryant Burkey Broth con resazurina y lactato (BBB) (Merk). Los datos se han transformado en logaritmos decimales para obtener una distribución normal. Para el análisis de factores de variación se ha realizado un ANOVA factorial siguiendo el procedimiento GLM mediante el Programa Estadístico SAS (SAS INSTITUTE INC, 2000. Versión 8). Para definir los grupos homogéneos ($P < 0,05$) se han utilizado Mínimos Cuadrados. Los factores analizados son el tipo de alimentación, la higiene de la sala de ordeño, la estación del año y el tamaño de la explotación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del recuento de esporas butíricas muestran que el nivel de contaminación en leche varía en función del número de esporas presentes en la alimentación de las ovejas de ordeño. Se observa que al utilizar mezclas comerciales, los recuentos de esporas butíricas tanto en el alimento como en la leche han sido menores que al utilizar unifeed de elaboración propia (Tabla 1). Esta diferencia radica en la utilización de forrajes desecados para la elaboración de las mezclas comerciales, y que permiten su almacenamiento durante mayor tiempo en la explotación, mientras que en las mezclas elaboradas en la propia

ganadería se utilizan generalmente ensilados. Según estudios realizados en vacas (Vissers y cols., 2007,2008), el uso de ensilado es la causa principal de contaminación de la leche con esporas butíricas, siendo determinante las condiciones de su conservación.

Tabla 1. Efecto del tipo de alimento sobre el logNMP en alimento y en leche de oveja.

Alimento	logNMP alimento	logNMP leche
Elaboración propia	3,73 ^a	3,41 ^a
Comercial	2,77 ^b	3,17 ^b
Error estándar	0,15	0,05

Letras diferentes en la misma columna indican valores significativamente diferentes ($p < 0,05$)

En el estudio de la influencia de la higiene de la sala de ordeño sobre el recuento de esporas butíricas se observa que unas adecuadas condiciones higiénicas determinan un menor recuento de esporas en alimento y en la leche, aunque en el caso del alimento no ha llegado a ser significativo (Tabla 2). Una higiene deficiente en la sala de ordeño facilita la contaminación de las ubres y del equipo de ordeño por heces, fuente importante de esporas butíricas, favoreciendo la contaminación de la leche con esporas. En este sentido, habría que extremar las medidas higiénicas en la explotación, con especial atención a la sala de ordeño y lechería, con el fin de reducir la contaminación butírica en leche. Estos resultados revelan la importancia de la implantación de códigos de buenas prácticas agrícolas y ganaderas.

Tabla 2. Efecto de la higiene de sala de ordeño sobre el logNMP en el alimento y en leche de oveja.

Higiene	logNMP alimento	logNMP leche
Deficiente	3,44 ^a	3,45 ^a
Intermedia	3,27 ^a	3,35 ^a
Buena	3,05 ^a	3,07 ^b
Error estándar	≤0,23	≤ 0,08

Letras diferentes en la misma columna indican valores significativamente diferentes ($p < 0,05$)

En cuanto al efecto de la estación del año sobre la variación del recuento de esporas en leche, se observa que los mayores recuentos se han producido en otoño-invierno (Tabla 3). Las mayores precipitaciones y las temperaturas más bajas producidas en invierno y otoño provocan una mayor humedad en las camas, favoreciendo una mayor contaminación de las ubres. Por tanto, en estas épocas es muy importante una periódica renovación de las camas de las ovejas de ordeño. El recuento de esporas butíricas en el alimento, al igual que la leche, también ha presentado mayor contaminación en otoño e invierno, aunque las diferencias no han llegado a ser significativas, debido probablemente a que el tipo de alimentación varía según la época del año: diversos autores (Vissers y cols., 2007, Julien y cols., 2008) señalan que el ensilado de maíz, suministrado en otoño e invierno, contiene mayor cantidad de esporas butíricas que otro tipo de ensilados.

Tabla 3. Efecto de la estación del año sobre el logNMP en el alimento y en leche de oveja.

Estación	logNMP alimento	logNMP leche
Primavera	3,00 ^a	3,16 ^c
Verano	3,20 ^a	3,21 ^{bc}
Otoño	3,56 ^a	3,33 ^{ab}
Invierno	3,26 ^a	3,45 ^a
Error estándar	≤ 0,22	≤ 0,22

Letras diferentes en la misma columna indican valores significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Por último, el sistema de explotación, que se asocia a un tamaño de explotación influye en la variación del recuento de esporas tanto en el alimento como en la leche (Tabla 4). Se observa un incremento de esporas butíricas en la ración alimenticia al aumentar el número de ovejas por ganadería. El régimen de explotación más intensivo de las ganaderías con un mayor censo, les permite elaborar su propio alimento. En cambio, las explotaciones con menor número de animales son las que en mayor medida utilizan las mezclas comerciales. En el caso de la leche, los menores recuentos producidos en las ganaderías con 500-1000 ovejas serían debidos a otros factores inherentes al tamaño de la explotación, como el tipo de instalaciones y la facilidad de renovación de camas, que condicionarían la contaminación de las ubres.

Tabla 4. Efecto del tamaño de la explotación sobre el logNMP en el alimento y en leche de oveja.

Tamaño de la explotación (nº de ovejas)	LogNMP alimento	logNMP leche
<500	2,97 ^b	3,41 ^a
500-1500	3,16 ^{ab}	3,11 ^b
>1500	3,62 ^a	3,36 ^a
Error estándar	≤ 0,18	≤ 0,06

Letras diferentes en la misma columna indican valores significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Estos resultados revelan la necesidad de controlar la incidencia de las esporas butíricas en las ganaderías en el marco de los sistemas de control de la calidad de la leche.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Inocente, N., Corradini, C. 1996. Use of low ripening temperature to control anomalous fermentations in Montasio cheese. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, 47 (18), 89-102. ● Julien, M.C., Dion, P., Lafrenière, C., Antoun, H., Drouin, P. 2008. Sources of clostridia in raw milk on farms. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (38), 6348-6357. ● Senik, G.F., Scheib, J.A., Browx, J.M., Ledford, R.A. 1989. Evaluation of methods for determination of spore-formers responsible for the late gas-blowing defect in cheese. *Journal of Dairy Science*, 72, 360-366. ● USDA, 2003. Most Probable Number Tables, MLG Appendix 2.02. United States Department of Agriculture. Food Safety And Inspection Service, Office of Public Health and Science, 1-8. ● Vissers, M.M.M., Driehuis, F., Te Giffel, M.C., De Jong, P., Lankveld, J.M.G. 2007. Concentrations of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. *Journal of Dairy Science*, 90 (26), 928-936. ● Vissers, M.M.M.; Driehuis, F. 2008. On farm hygienic milk production. BLBK061-Tamime, 1, 1-22.

BUTYRIC CONTAMINATION IN MANCHEGA EWES' BULK TANK AND RELATIONSHIP WITH ANIMAL RATION AND HYGIENIC AND SANITARY CONDITIONS.

ABSTRACT. In order to know the effect of type of feeding, hygienic conditions, season and farm size on butyric contamination in Manchega herds milk and feed, 276 samples of tank milk and 138 samples of feed ration have been analyzed. The study reveals that commercial unifeed has lower butyric spores counts than ration produced in the farm. In addition, bulk tank milk from ewes fed with commercial unifeed also has lower counts than milk from sheep fed with the own unifeed. Regarding to milking parlor adequate hygiene levels reduce the number of spores in both ration and milk. Taking into account the seasonal variation, the lowest spore counts have obtained in spring. These results are related to the differences in the raw materials used in the feed ration and to the hygienic conditions. Finally, considering the farm size, medium-sized farms (500-1000 ewes) show lower counts than small (<500 ewes) and big farms (>1500 ewes) due to the influence of different management systems.

Keywords: *butyric contamination, Manchega ewe, raw milk, feed ration.*

EFFECTO DE LA ÉPOCA DE INICIO DE LACTACIÓN SOBRE EL RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LECHE DE CABRA MURCIANO-GRANADINA

Oliete, B., Arias, R., Arias, C., Jiménez, L. y Pérez-Guzmán, M.D.

Centro Regional de Selección y Reproducción Animal. Avda. del vino, 10, 13300 Valdepeñas (Ciudad Real, España). Email: boliete@jccm.es

INTRODUCCIÓN

La leche de cabra, de gran importancia socioeconómica en países como Francia, Grecia y España, se destina fundamentalmente a la elaboración de queso. España se sitúa en el cuarto lugar de la producción total europea (FAO, 2010), concentrada en las Comunidades Autónomas de Andalucía, Islas Canarias y Castilla-La Mancha (MARM, 2009). En estas regiones, destaca la raza Murciano-Granadina por su número de efectivos y por su estimable producción lechera.

El Control Lechero Oficial (Real Decreto 368/2005) incluye como indicador de calidad sanitaria de la leche de cabra el recuento de células somáticas (RCS), de importancia para la detección de posibles infecciones intramamarias (Paape et al., 2007). Sin embargo, en ganado caprino la relación entre RCS y la prevalencia de mastitis es difícil de definir debido por un lado a la naturaleza apocrina de la secreción de la leche (Wooding et al., 1970); por otro lado debido al efecto dilución/concentración como consecuencia de la variación en la producción (Bergonier et al., 2003); y por otra parte debido a la gran influencia de factores de origen no infeccioso sobre la variación de RCS (Paape et al., 2001). En este sentido, existen numerosos estudios que han analizado la importancia de los factores no infecciosos sobre el recuento celular (Contreras et al., 1999; Sánchez et al., 1999; Luengo et al., 2004;) entre los que destaca el estado de lactación (Wilson et al., 1995). Sin embargo, existe escasa información sobre la importancia de la época de inicio de lactación sobre RCS y la producción. Ante esta situación se plantea este trabajo con el objetivo de analizar el efecto de la época del año de inicio de la lactación sobre el recuento celular y la producción de leche así como su variación a lo largo de la lactación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han recogido un total de 156.899 datos de recuento de células somáticas (RCS) del control lechero oficial entre los años 2004 y 2009, procedentes de 34.531 cabras de raza Murciano-Granadina de 43 rebaños pertenecientes a la Asociación Control Lechero de Castilla-La Mancha de la raza caprina Murciano-Granadina (ANCLA). Se han considerado hasta un máximo de 6 controles por lactación y cabra.

En cada uno de los controles realizados se ha recogido una muestra de 50ml de leche de cada cabra, a la que se le ha adicionado una pastilla de bronopol como conservante y se ha transportado en un plazo máximo de 72 horas al Laboratorio de Lactología del CERSYRA con sede en Valdepeñas (Ciudad Real). El RCS se ha determinado con un analizador automatizado Fossomatic FC (Hillerød, Dinamarca), mediante el método fluoro-opto-electrónico. Debido al elevado sesgo de los datos obtenidos en RCS, se ha calculado su logaritmo decimal (SCS) con el fin de obtener una distribución normal.

A partir de los datos de SCS de cada control se han calculado los valores medios a lo largo de la lactación. Estos valores se han analizado mediante el procedimiento PROC GLM del programa estadístico SAS (SAS Institute inc, 2000. Versión 8), considerando la estación de inicio de lactación como factor de variación, así como su interacción con el número de control.

Este análisis se ha realizado en dos grupos de datos. El primero incluye la población total estudiada (34.523 cabras-Población A), mientras que el segundo incluye solo aquellas cabras con un valor de RCS $<750 \times 10^3$ células/ml en los tres primeros controles (17.535 cabras-Población B). Este umbral de discriminación se ha definido en función de estudios previos que mostraron una estabilización en el valor de SCS a partir del 4º control (datos no mostrados).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de animales incluidos en el análisis se ha mantenido a lo largo de la lactación, excepto al final ya que únicamente se ha realizado el 6º control al 25% de las cabras.

Las medias de SCS de toda la lactación en función de la estación de inicio de la lactación se muestran en la Tabla 1. Las lactaciones que empiezan en verano muestran valores de SCS más altos que las lactaciones que empiezan en otras épocas del año, tanto en la población A como en la B. Este comportamiento se debe en parte al efecto de las condiciones climáticas sobre la sanidad y el recuento celular de los animales, y por otra parte al efecto de la concentración debido a la menor producción de leche en verano, tal como se ha indicado para la raza ovina Manchega en la misma área geográfica (Arias et al., 2010)

Tabla 1. Valores medios de SCS-L, PL-L, PL-210, PL-3.5 en función de la época del año de inicio de la lactación.

	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
Población A	5,80 b	5,74 a	5,73 a	5,73 a
Población B	5,54 c	5,44 a	5,46 a	5,48 b

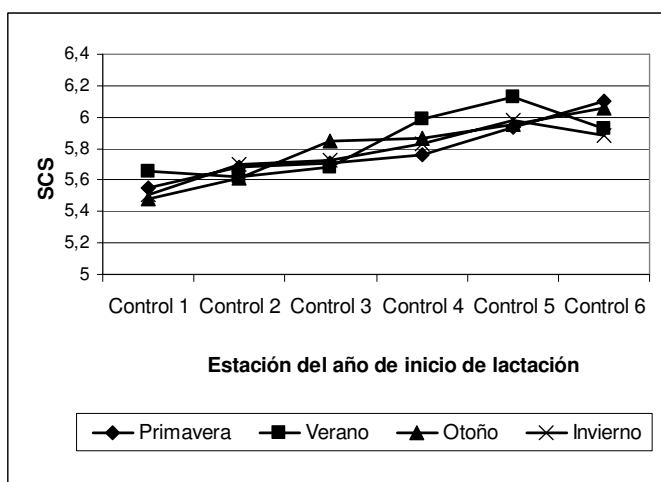
Medias en la misma fila con diferente letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

¹SE $\leq 0,02$.

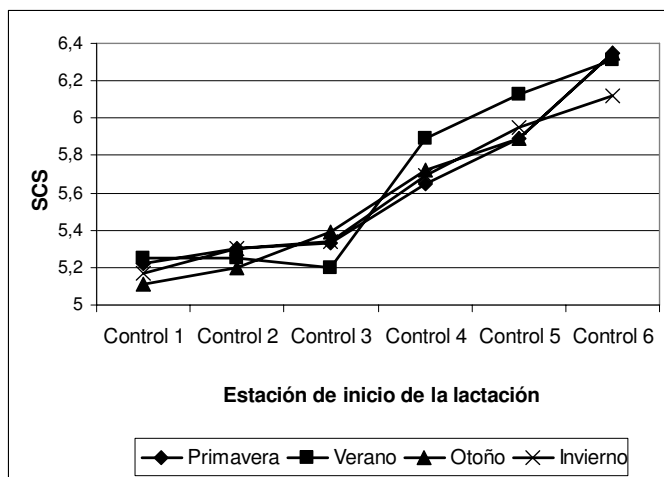
El aumento de SCS a lo largo de la lactación se hace especialmente notable a partir del 4^o control en la población B (Figura 1b) Este resultado señala la presencia de partículas citoplasmáticas en la leche debido a la naturaleza apocrina de la secreción de leche en cabras. En consecuencia se confirma la escasa utilidad de los recuentos celulares como indicador del adecuado estado sanitario de las cabras al final de la lactación. Al considerar la población total (A), el incremento es más suave debido a la influencia de las cabras con elevados RCS. Este aumento es especialmente notable en las lactaciones que empiezan en verano debido probablemente al estrés térmico causado por las bajas temperaturas en el 4^o control que corresponde con otoño-invierno (Figura 1a); al final de esta lactación (primavera aproximadamente) la población total muestra una disminución del SCS. Las lactaciones que empiezan en invierno muestran el menor aumento de SCS al final de la lactación en las dos poblaciones estudiadas; el final de esta lactación corresponde con el final del verano, principio de otoño, época del año caracterizado por temperaturas suaves. Estos resultados señalan el efecto positivo de las temperaturas suaves para prevenir elevados recuento celulares.

Figura 1. Variación de SCS a lo largo de la lactación al analizar (a) la población total de cabras (Población A) y (b) los animales con $RCS < 750 \times 10^3 \text{ cells/ml}$ en los tres primeros controles (Población B)

(a)



b)



Estos resultados señalan que el aumento de células somáticas y la disminución en la producción de leche a lo largo de la lactación se ven afectados por la época del año de inicio de lactación, quedando demostrada por tanto la importancia de las condiciones climáticas sobre el recuento celular en la leche de cabra de raza Murciano-Granadina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ◆Arias, R., Gallego, R., Oliete, B., Ramón, M., García, O., Arias, C., Montoro, V., Pérez-Guzmán, M.D. (2011). *II Congreso Nacional de Zootecnia. Actas del congreso*, 122-125.
- ◆Bergonier, D., De Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. (2003). *Veterinary Research*, 34, 689-716.
- ◆Contreras, A., Paape, M.J., Millar, R.H. (1999) *Small Ruminant Research*, 31, 203-208.
- ◆Luengo, C, Sanchez, A, Corrales, JC, Fernandez, C, Contreras, A (2004). *Journal of Dairy Research*, 71, 169-174.
- ◆Paape, M.J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J.C., Capuco, A.V. (2001) *Journal of Dairy Science*, 84, 237-244.
- ◆Paape, M.J., Wiggans, G.R., Bannerman, D.D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R.H. (2007). *Small Ruminant Research*, 68, 114-125.
- ◆Sanchez, A., Contreras, A., Corrales, J.C. (1999). *Small Ruminant Research*, 197-201.
- ◆Wilson, D.J., Stewart, K.N., Sears, P.M. (1995). *Small Ruminant Research*, 16, 165-169.
- ◆Wooding, F.B.P., Peaker, M., Linzell, J.L. (1970) *Nature*, 226, 762.

EFFECT OF THE SEASON OF LACTATION ONSET ON SOMATIC CELL COUNT AND MILK YIELD OF MURCIANO-GRANADINA GOAT MILK

ABSTRACT

156,899 test-day records for somatic cell count (SCC) obtained between 2004 and 2009 from 34,531 Murciano-Granadina goats in 43 different flocks belonging to Association of Dairy Herd Control of Murciano-Granadina Goats of Castilla-La Mancha (ANCLA, Spain) were used to study the effect of the season of lactation onset on SCC and the relationship with the lactation stage. SCS increase throughout lactation was affected by the season of lactation onset. The most noticeable changes are observed in lactations beginning in summer, above all from the 4th test-day record. The importance of weather conditions on SCC is demonstrated.

Keywords: Goat milk, Somatic cell count, lactation onset, Murciano-granadina breed.

EFFECTO DEL USO DE MICROSILOS DE SUBPRODUCTOS DEL MAÍZ EN LA CALIDAD TECNOLÓGICA DE LECHE OVINA MANCHEGA

Jiménez-Sobrino, L.², Garzón-Sigler, A.¹, Perea-Muñoz, J.M¹, García, A.¹, Oliete, B.² y Arias, R.²

¹Departamento de Producción animal, Facultad de Veterinaria de Córdoba, España;

²Centro Regional de Selección y Reproducción Animal (CERSYRA), Avenida del vino, 6. 13.300 Valdepeñas (Ciudad Real) España

lorenajimenez15@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La utilización de forrajes alternativos en los sistemas de producción ovina son poco conocidos, pero podrían tener un importante papel en periodos de engorde de corderos, la preñez o en momentos de escasez de pasto (Brown and Thomas, 1989; Croston and Pollot 1994). Por otro lado, dada la gran influencia de la alimentación en la calidad de la leche de ovino, el ensilado de estos forrajes como alimento para las ovejas de ordeño, supondría la estabilidad de las características de la leche y en consecuencia de los productos elaborados a partir de ella.

Ya que el uso de ensilado de maíz como forraje complementario en los sistemas de producción lechera, puede resolver algunos problemas encontrados con el ensilado de heno, como el exceso de ácido láctico o una insuficiente ingesta voluntaria (Phipps et al., 1993; Leaver and Hill, 1995), parece interesante utilizar ensilado de subproductos del maíz como alimento en las ovejas. El principal método de conservación del cereal cosechado es en forma de ensilado con urea, con contenidos en materia seca mayores de 500 g/Kg (Hill and Leaver, 1999). Sin embargo el ensilado exige una adecuada compactación, el adecuado cierre durante su preparación, evitando la entrada de aire durante su conservación y así reducir al máximo las pérdidas debidas al deterioro aerobio. Una posible solución a estos inconvenientes es el uso de silos de pequeño tamaño o microsilos. El objetivo de este estudio no radica únicamente en comprobar si la tecnología de los microsilos resulta satisfactoria o no, sino que intenta aplicarlo en el ámbito real de la producción lechera, analizándose pues las características de la leche obtenida de los animales alimentados a base de microsilos de diferente composición, en cuanto a composición y propiedades tecnológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionan 75 ovejas de Raza Manchega con número de lactación, peso y época de parto similares. Los animales se reparten en tres grupos de 25 animales cada uno. A cada grupo se le suministra una alimentación diferente: T1 y T2 (microsilos de 500 Kg a base de subproductos del maíz; sin fermentar y fermentados respectivamente) y T3 (mezcla unifeed). La composición de los tres tratamientos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química nutricional del ensilado de maíz sin fermentar y fermentado (% sobre materia seca) y de mezcla unifeed utilizadas.

Variables	T1	T2	T3
Materia seca	45,3	42	54
Proteína Bruta	6,4	10,6	16
FDN	35,2	48,5	7
FDA	22,6	31,4	4
Fibra bruta	57,8	79,9	11
Grasa	0,82	1,14	3,5
N amoniacal	0,05	0,17	0,18

T1: ensilado de subproducto de maíz sin fermentar. T2: ensilado de subproducto de maíz fermentado. T3: mezcla unifeed.

Las muestras de leche se recogieron de forma individual, con frecuencia semanal, a lo largo de 9 semanas de estudio, comenzando desde el día siguiente del destete. Los parámetros

físico-químicos (pH, grasa, proteína) se determinan mediante un analizador Milkoscan FT 120 Type 71200 (Foss Electric, Hillered, Dinamarca) y los parámetros tecnológicos (tiempo de coagulación, velocidad de endurecimiento, dureza del coágulo y rendimiento en cuajada), se determinan mediante un equipo Formagraph Foss-Electric (Foss Electric, Hillered, Dinamarca).

Los datos obtenidos se analizan estadísticamente mediante un análisis de varianza ANOVA, con el paquete estadístico Statgraphics considerando el tipo de alimentación como factor de variación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se recogen las medias de los parámetros analizados de la calidad lechera, según los tres tipos de alimentación que se han testado. En todos ellos, excepto en el rendimiento de cuajada, se puede ver la influencia significativa del tratamiento ($P < 0,1$), con claras diferencias entre grupos. Los valores medios de pH para los tres lotes se consideran dentro de la normalidad si se comparan con valores recogidos en anteriores experiencias de este tipo (Garzón, 1996). Para grasa y proteína, los valores más elevados se observan en el T3, probablemente debido al mayor contenido en grasa y proteína del unifeed (Tabla 1), al tratarse de un alimento de calidad comparado con los ensilados de subproductos de maíz. Los datos obtenidos en la leche de las ovejas alimentadas con T3 son similares a los indicados por Garzón (1996) en un estudio de la aptitud tecnológica de la leche de oveja de raza manchega, así como por Arias (2009) en un trabajo realizado desde 2002 a 2006 con 832 ganaderías de oveja de raza Manchega. Además la leche de las ovejas alimentadas con T1 presenta valores de grasa mayores que las alimentadas con T2, como era de esperar a la vista de la composición de los tratamientos (Tabla 1). Sin embargo, no aparecen diferencias significativas entre T1 y T2 en el porcentaje de proteína de la leche, aunque el contenido en proteína de T2 es mayor que en T1 (Tabla 1). En cuanto a las propiedades tecnológicas de la leche, T1 y T2 presentan los valores más bajos de tiempo de coagulación y velocidad de endurecimiento, sin mostrar diferencias significativas entre ellos. Estos resultados indican que la utilización de T1 y T2 permitiría obtener la coagulación de la leche y el endurecimiento de la cuajada en menos tiempo, acelerando el proceso de elaboración de queso. La leche procedente de T3 muestra diferencias significativas con la leche de T1 y T2 en el tiempo de coagulación, y con la leche de T2 en la velocidad de endurecimiento. Los datos obtenidos correspondientes a la leche de T3 son similares a los obtenidos por Garzón (1996). Los valores más elevados de dureza máxima del coágulo corresponden a la leche procedente de T1 y T2. La leche de T1 además no presenta diferencias significativas con la leche de T3. Desde el punto de vista práctico valores de dureza elevados suponen mayor facilidad de manejo en el proceso de elaboración de queso de pasta prensada como el Queso Manchego. El rendimiento de cuajada no muestra diferencias significativas entre los tres tratamientos.

A la vista de estos resultados se puede concluir que la alimentación de ovejas de ordeño con ensilado de subproductos de maíz es una alternativa interesante para obtener leche de calidad para la elaboración de queso, a pesar de mostrar menores valores de grasa y proteína. Asimismo estos resultados muestran la necesidad de tener en cuenta los parámetros tecnológicos a la hora de establecer el precio de la leche destinada a la elaboración de queso.

Tabla 2. Medias y desviación estándar de los parámetros de calidad de la leche según los diferentes tratamientos

	T1	T2	T3	P<0,1
pH	6,74 ± 0,01 ^a	6,71 ± 0,01 ^a	6,77 ± 0,01 ^b	0,001
Grasa (%)	6,85 ± 0,11 ^b	6,55 ± 0,10 ^a	7,34 ± 0,10 ^c	0,000
Proteína (%)	5,02 ± 0,01 ^a	5,05 ± 0,01 ^a	5,18 ± 0,01 ^b	0,000
T.coagulación (min)	31,30 ± 1,04 ^a	30,12 ± 1,03 ^a	36,48 ± 0,96 ^b	0,000
V. endurecimiento (min)	16,87 ± 1,63 ^{ab}	14,34 ± 1,62 ^a	19,77 ± 1,50 ^b	0,048
Dureza máxima (mm)	33,22 ± 1,28 ^{ab}	35,37 ± 1,27 ^b	30,99 ± 1,18 ^a	0,042
Rto. cuajada (g/l)	2,22 ± 0,07 ^a	2,03 ± 0,07 ^a	2,12 ± 0,06 ^a	0,174

**Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos (LSM)*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, R, 2009, Recuento de células somáticas y calidad de la leche de oveja en Castilla-La Mancha, Universidad de Castilla-La Mancha, 211pp. ●Brown, D,C., Thomas, E,M., 1989, Feeding maize silage to pregnant ewes, Anim, Prod, 48, 647 (abstr). ●Croston, D., Pollott, G,E., 1994, Planned Sheep Production, Blackwell Scientific Publications, London, UK, 207 pp, ●Garzón, A, I, 1996, Incidencia de las variantes genéticas de las proteínas lácteas sobre la aptitud tecnológica de la leche en ovejas de raza Manchega. Universidad de Córdoba, 301pp. ●Hill, J., Leaver, J,D., 1999, Energy and protein supplementation of lactating dairy cows offered urea treated whole-crop wheat as the sole forage, Anim, Feed Sci, Technol, 82, 177–193. ●Leaver, J,D., Hill, J., 1995, The performance of dairy cows offered ensiled whole-crop wheat, urea-treated whole-crop wheat or sodium hydroxide-treated wheat grain and wheat straw in a mixture with grass silage, Anim, Sci, 61, 481–489. ●Phipps, R,H., Sutton, J,D., Jones, B,A., Allen, D., Fisher, W., 1993, The effect of mixed forage diets on food intake and milk production of dairy cows, Anim, Prod, 56, 424.

EFFECT THE USE OF CORN BY PRODUCTS MICROSILAGES IN THE QUALITY MILK MANCHEGA SHEEP

ABSTRACT.

Nowadays, one of the main problems of agri-food sector is the major environmental impacts of agricultural sub-products and industrial waste, One of the most interesting solutions for recycling, is its transformation into animal feed, as long as it accompanies a shift in conservation and quality materials, This study aims to evaluate the influence of technology in micro manufacturing products based on the technological quality of milk and weight of lactating Manchega sheep, For the experimental design there were 3 groups of 25 animals each (batch control, batch 1 and batch 2 respectively). Batch 1 and 2 were given food that we wanted to evaluate, microsilages with and without inoculum respectively for 9 weeks of study, According to the results of dairy quality, the use of corn microsilages products are satisfactory for feeding lactating sheep, obtaining improvements in technological quality of milk.

Keywords: milk quality, corn silage, feeding, Manchega sheep

IGP QUESO DE TERUEL: ESTUDIO PRELIMINAR DEL PROCESO TECNOLÓGICO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA

Estrada, O.¹, Juan, T.¹, Ariño, A.² y Estopañán, G.¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón, Avda. Montañana, 930, 50059 Zaragoza. E-mail: oestrada@aragon.es

² Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

El queso es un producto tradicional de gran raigambre histórica en la provincia de Teruel. La Asociación Turolense de Productores de Leche y Queso nace en 2004 marcándose los objetivos de velar por los intereses de la ganadería de ovino y caprino de aptitud lechera en la provincia, recuperar la tradición quesera y fomentar la implantación de industrias del sector lácteo, con el propósito de conseguir la Indicación Geográfica Protegida (IGP) "Queso de Teruel". Los quesos amparados bajo esta figura de calidad diferenciada se elaborarán guardando la tradición quesera pero utilizando un molde que aportará a los quesos una innovadora forma octolobulada. Este nuevo formato pretende ser un reclamo para el consumidor y le hace ser un producto único en el mercado. La obtención de esta denominación de calidad, obliga a aplicar normas comunes en todas las fases de producción y transformación que quedan recogidas en el Pliego (provisional) de condiciones de la IGP "Queso de Teruel".

El presente trabajo, enmarcado dentro del Proyecto de tipificación y homogeneización de queso de la IGP Teruel, fue el punto de partida para conocer el proceso tecnológico en las queserías pertenecientes a la Asociación y las propiedades fisicoquímicas que caracterizan el producto.

MATERIAL Y MÉTODOS

En primer lugar se estudió el proceso tecnológico de las 10 queserías pertenecientes a la Asociación Turolense de Productores de Leche y Queso, las cuales se encuentran distribuidas por toda la provincia de Teruel. Los factores que se tuvieron en cuenta fueron el tipo de leche utilizada (oveja o cabra), tipo de fermentos, tipo de cuajo (animal o vegetal), la utilización o no de sales de calcio (CaCl_2) para la mejora de la coagulación, utilización de conservadores, tiempo y temperatura de cuajado, tipo de corte y agitación de la cuajada, tamaño del grano de la cuajada, tipo de moldeado, prensado, tipo de salado (salinidad, tiempo y temperatura) y condiciones de la maduración. A continuación se llevaron a cabo las determinaciones de los parámetros físico-químicos de muestras obtenidas en las distintas queserías. El estudio se ha centrado en las 7 queserías que elaboran habitualmente queso a partir de leche cruda de oveja analizando 35 muestras. Se determinó el pH, la actividad de agua (a_w), el extracto seco (E.S), el % de proteína, % de grasa, % de cenizas y % de NaCl. El análisis estadístico se realizó con el programa *Graph Pad Prism 3.03*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez analizado el proceso tecnológico en las 10 queserías artesanas de Teruel se observaron las similitudes y diferencias en el proceso de elaboración. Siete de ellas elaboraban queso de leche cruda de oveja. Todas utilizaban leche de ovejas de raza Assaf y 3 de ellas también utilizaban leche de oveja de raza Lacaune. Cinco tenían explotación propia. En cuanto a los ingredientes utilizados, todas utilizaban cultivos iniciadores comerciales de la especie *Lactococcus lactis* (de diferentes subespecies), salvo una que elaboraba sus propios fermentos según receta tradicional. Todas utilizaban cuajos comerciales animales obtenidos a partir de cuajares de ternero lechal. Tres de las queserías

añadían cloruro de calcio (CaCl_2) para favorecer la formación de la cuajada a pesar de utilizar leche cruda y todas ellas añadían sales nitrificantes para evitar la hinchazón tardía de los quesos. El tiempo de cuajado variaba desde 20 a 45 minutos y las temperaturas de cuajado variaban entre 28 y 35 grados en función de la quesería. Una vez formada la cuajada, 3 queserías procedían al corte de forma manual con liras y el resto lo hacía de forma automática para favorecer la eliminación del suero retenido en la cuajada durante la coagulación, consiguiendo un tamaño de grano de arroz-garbanzo. Posteriormente todas las queserías procedían a la agitación de forma automática. Realizado el desuerado se realizaba el llenado de los moldes de forma manual. En todas las queserías realizaban el prensado en prensas neumáticas horizontales para finalizar el desuerado. Todas las queserías realizaban el salado por inmersión de los quesos en salmuera. El salado difería en cuanto a la salinidad de la salmuera (de 12 a 22 grados Baumé), temperatura de la misma (entre 8°C y 15°C) y tiempo de permanencia en la misma (desde 3 a 38 horas). La temperatura de las cámaras de maduración oscilaba entre 5°C y 16°C con humedades relativas entre 75 y 90%. La Tabla 1 muestra los resultados de los análisis físico-químicos realizados.

Los resultados de aW obtenidos, $0,924 \pm 0,024$, son similares a resultados obtenidos por otros autores en quesos de oveja españoles como Idiazabal ($0,932 \pm 0,004$), Manchego ($0,934 \pm 0,006$), Zamorano ($0,913 \pm 0,018$) (Etayo et al., 2006) o Los Pedroches ($0,929$) (Sanjuan et al., 2002). El valor medio de pH obtenido fue $5,54 \pm 0,18$. Este valor se encuentra dentro del intervalo de valores de pH de quesos españoles de oveja con Denominación de Origen Protegida (DOP) (5,3-5,8) (Delgado et al., 2010; Taborde et al., 2003). El valor medio obtenido en la determinación de las cenizas (6,13) es claramente inferior al obtenido por Sanjuán en el queso Los Pedroches (8,22%, S.S.S.) (Sanjuan et al., 2002) y similar al del Queso Zamorano (entre 6,00 y 7,50% S.S.S.). El valor medio del extracto seco fue de $73,50\% \pm 4,09$, mayor que el encontrado en otros tipos de queso como Idiazabal (69,9%), Manchego (67,5%) y Zamorano (71,6%) (Etayo et al., 2006), así como La Serena (58%), Torta del Casar (67%), Los Pedroches (64%) y Roncal (70%) (Pardo et al., 1996). El valor medio de proteína, expresado sobre sustancia seca, $30,41\% \pm 4,97$, fue inferior al encontrado en quesos como Idiazabal (36,1%), Manchego (35,6%) y Zamorano (32,8%) (Etayo et al., 2006), así como Roncal (35,85%) (Taborde et al., 2003) y Los Pedroches (40,76%) (Sanjuan et al., 2002). El valor medio del porcentaje de grasa de los quesos fue $53,12\% \pm 2,96$. Este valor fue superior al de otros quesos como Los Pedroches (48,19%) (Sanjuan et al., 2002), Idiazabal (52,06%) (Abilleira et al., 2009), Roncal (51,2%) (Irigoyen et al., 2001), similar al del queso Zamorano (52%) (Barron et al., 2005) e inferior a los valores de grasa en queso Manchego ($> 55\%$) (Pardo et al., 1996). El valor de cloruro sódico ($1,83 \pm 0,66$, % S.S.S.) fue muy inferior a otros quesos de oveja como el Queijo Serpa portugués (5% S.S.S.), inferior a la cantidad de cloruros en el Queso Manchego (2,61% S.S.S) (Ballesteros et al., 2006). En queso de La Serena se han encontrado valores de NaCl de 2,42% (Marsilla, 1979) y tanto en queso Idiazabal como en Zamorano se han encontrado valores de un 2,5% (Etayo et al., 2006). El queso de oveja Los Pedroches tiene valores muy similares a los encontrados en este trabajo (1,88% S.S.S.) (Sanjuan et al., 2002).

El Pliego provisional de condiciones contempla aspectos tecnológicos como el tiempo de permanencia en la salmuera (menor de 36 horas) y establece tiempos de referencia en función de la salinidad (saturación/10 horas, 16 grados Baumé/24 horas, 18 grados Baumé/20 horas). Las mayores diferencias en el proceso tecnológico se encontraron en la etapa de salado. Estas diferencias tecnológicas no se reflejaron en el porcentaje de NaCl de las muestras. Además, la maduración de los quesos con IGP no será inferior a 120 días lo que permitirá una mayor homogeneidad entre los productos.

Todas las muestras analizadas estuvieron por encima del contenido mínimo de grasa sobre extracto seco (45%) y del valor de extracto seco (55%) que se recogen en el Pliego (provisional) de condiciones "IGP Queso de Teruel". El resto de los parámetros físico-químicos no están regulados por el Pliego de condiciones. En parámetros como el extracto seco y la proteína se observó variabilidad en los resultados, hecho que podría explicarse tanto por la diferencia en el grado de maduración de las muestras como por diferencias en los procesos tecnológicos de cada quesería. Pese a las diferencias de maduración de las muestras se observó una gran homogeneidad en los parámetros físico-químicos que caracterizan los quesos y similitudes con resultados ofrecidos por otros autores para quesos

de las mismas características amparados bajo Denominaciones de Origen Protegidas en España.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abilleira, E., Collomb, M., Schlichtherle-Cerny, H., Virto, M., de Renobales, M., & Barron, L. J. R. (2009). *J.Agric.Food Chem.*, 57(11), 4746-4753
- Ballesteros, C., Poveda, J. M., Gonzalez-Vinas, M. A., & Cabezas, L. (2006). *Food Control*, 17(4), 249-255
- Barron, L. J. R., Redondo, Y., Flanagan, C. E., Perez-Elortondo, F. J., Albisu, M., Najera, A. I., et al. (2005). *Int.Dairy J.*15(4), 371-382
- Etayo, I., Perez Elortondo, F. J., Gil, P. F., Albisu, M., Virto, M., Conde, S., et al. (2006). *Lait*, 86(6), 415-434
- Irigoyen, A., Izco, J. M., Ibanez, F. C., & Torre, P. (2001). *Food Chem.*, 72(2), 137-144
- Jose Delgado, F., Gonzalez-Crespo, J., Cava, R., Garcia-Parra, J., & Ramirez, R. (2010). *Food Chem.*, 118(1), 182-189
- Pardo, J. E., Pérez, J. I., Gómez, R., Tardáguila, J., Martínez, M., & Serrano, C. E. (1996). *Alimentaria*, 95-100
- Sanjuan, E., Millan, R., Saavedra, P., Carmona, M. A., Gome, R., & Fernandez-Salguero, J. (2002). *Food Chem.*, 78(3), 281-289
- Taborda, G., Molina, E., Martinez-Castro, I., Ramos, M., & Amigo, L. (2003). *J.Agric.Food Chem.*, 51(1), 270-276.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado bajo la financiación del Proyecto INIA PET200701-C07-01 "Tipificación y homogeneización de queso de la IGP Teruel". Los autores quieren agradecer la colaboración de la Asociación Turolese de Productores de Leche y Queso y al Grupo Consolidado de Investigación A01/2008 (DGA).

Tabla 1. Perfil físico-químico de queso de leche cruda de oveja; (S.S.S.: Sobre Sustancia Seca)

DETERMINACIONES	UNIDADES	MEDIA	D.S.
aw		0,924	0,024
pH		5,54	0,18
Cenizas	%S.S.S	6,13	0,70
Extracto Seco	%	73,50	4,09
Proteína	% S.S.S	30,41	4,97
Grasa	% S.S.S	53,12	2,96
Cloruro de Sodio	% S.S.S	1,83	0,66

TERUEL CHEESE (PGI): PRELIMINARY STUDY OF THE TECHNOLOGICAL PROCESS AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT. The Association of Dairy and Cheese Producers of Teruel (Spain) was founded with the aim of promoting artisan cheese production in order to obtain a Protected Geographical Indication (PGI). Cheeses protected under PGI maintain the traditional manufacturing process but include an innovative format consisting of a multi-lobulated shape (eight lobes), unique in the market. These cheeses will be produced under precise conditions described in the PGI Specification. At the end of the maturation period, Teruel Cheese (PGI) must have at least 45% fat in dry matter and a minimum of 55% dry matter. As a starting point for the homogenization and standardization of the product, the present work was conducted to study the technological process used in the dairies belonging to the Association and the physico-chemical parameters (water activity, pH, ash, dry matter, fat, protein and sodium chloride) of the cheese, which is made from raw ewes' milk. The differences found in the salting phase of the technological process were not reflected in the percentage of sodium chloride of the cheese samples. All samples met the physical and chemical characteristics described in the statement of Specification for Teruel Cheese (PGI).

Keywords: Cheese, PGI

COMPARACION DE UN MÉTODO PARA CUANTIFICACIÓN RÁPIDA DEL ÁCIDO OLEICO EN CARNE DE CERDO RESPECTO A LA CROMATOGRAFIA DE GASES

Tor, M.¹, Muñoz R.¹, Vilaró, F.², Eras, J.³ y Estany, J.¹

¹Departament de Producció Animal. ² Serveis Científico-tècnics. ³Departament de Química. Universitat de Lleida. Alcalde Rovira Roure, 191, 25198. Lleida.

mtor@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El análisis de la composición de la grasa más frecuentemente utilizado, se basa en la identificación y cuantificación de los ácidos grasos (AG). Cuando lo que se persigue es el perfil de ácidos grasos de los lípidos totales, no es necesario el fraccionamiento de la grasa, previo a la transesterificación de los triglicéridos y existen numerosos métodos que proponen, en distintas matrices, realizar la transesterificación directa sobre el tejido (Rule, 1997, Eras et al. 2004). La metodología analítica que se suele utilizar para la posterior separación y cuantificación de los AG, es la cromatografía de gases en columna capilar con un detector de ionización de llama (CG/FID). El resultado de estos análisis es el perfil completo de ácidos grasos, bien sea de forma relativa, cuando se expresa la proporción de cada AG respecto al total de los mismos, bien sea de forma absoluta, cuando se expresa el contenido de cada AG por gramo de muestra. La principal ventaja de este procedimiento es que se obtiene información pormenorizada de todos los ácidos grasos presentes en la muestra. Los inconvenientes más notables son, la lentitud del proceso (especialmente la separación, puesto que las columnas capilares son largas y la cromatografía suele durar al menos 15 minutos por muestra) y el coste, debido precisamente al tiempo de uso del cromatógrafo y también al alto precio de los reactivos para la transesterificación y de los patrones.

En algunos entornos concretos, donde no es necesaria la información completa del perfil de ácidos grasos, sino que se está únicamente interesado, en alguno de ellos (Reixach et al. 2011), variando la metodología de análisis y focalizándola en el AG de interés, se puede reducir los costes de la determinación y sobre todo el tiempo de análisis. Esto permite incrementar la capacidad para trabajar con grandes volúmenes de muestras en cortos espacios de tiempo.

En este trabajo se describe la aplicación de un método de inyección de flujo basado en espectrometría de masas (FIA/MS) para la determinación cuantitativa del ácido oleico en carne de cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar la comparación del método rápido FIA/MS respecto al método convencional GC/FID en cuanto a precisión, exactitud, costes y capacidad de trabajo, se han utilizado los datos del laboratorio Fisiogenética del Departamento de Producción Animal la Universitat de Lleida. Cabe señalar por tanto, que son datos de un único laboratorio y que no proceden de un laboratorio de rutina sino de uno dedicado a la enseñanza e investigación. Concretamente los protocolos utilizados para el análisis mediante GC-FID son los descritos por Bosch et al. (2009) y los utilizados mediante el análisis de FIA-MS son los descritos por Muñoz et al. (2011). Las muestras utilizadas son de *m. glutaemus medius* procedentes de una única población de la raza Duroc.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar cabe destacar que los resultados cuantitativos obtenidos de contenido de ácido oleico (mg de ácido oleico/g carne) mediante ambos métodos, presentan una correlación de 0,85. Observando la Figura 1 se puede llegar a la conclusión de que el método FIA-MS puede ser de gran utilidad cuando lo que se busca es ordenar las muestras por contenido en ácido oleico, sobre todo si se está especialmente interesado en los valores extremos. Este puede ser el caso de la clasificación de productos de calidad o de programas

de mejora genética. En cambio presentará mayores dificultades si lo que se pretende es reproducir con gran exactitud los valores obtenidos mediante GC-FID.

En cuanto al coste del análisis existen amplias diferencias. Únicamente se han analizado los costes variables y en el caso de la CG-FID, en nuestras condiciones han sido 2,4 veces más altos que en el caso de FIA/MS. Además la distribución relativa de los costes variables también varía tal y como se muestra en la Tabla 1. Mediante el método de FIA-MS, se consiguen bajar sensiblemente los costes de material instrumental a pesar de utilizar un equipo de mayor coste, puesto que el tiempo de análisis medio es solo de 2 minutos. En cuanto al coste de mano de obra (picado, homogeneización, pesado, esterificación e hidrólisis), a pesar de ser menor en valores absolutos en el método FIA/MS, en proporciones relativas supone el coste variable más elevado. En cuanto a reactivos, al sustituir la transesterificación por una hidrólisis, los costes también bajan, tanto en valor absoluto como relativo.

Por último cabe mencionar una de las mayores ventajas del método FIA/MS, que es su rapidez. Si bien en la preparación de la muestra no se obtienen grandes ventajas en cuanto al ahorro de tiempo (únicamente se ahorra la liofilización), en el apartado de análisis instrumental el ahorro de tiempo si es muy grande. En el caso del método FIA-MS una ventana de registro de 60 segundos es suficiente. Además al no haber columna y ser un régimen isocrático, los tiempos de reequilibrado son nulos y entre muestra y muestra únicamente es necesaria la limpieza del inyector. Por todo ello, se pueden conseguir fácilmente tiempos de análisis instrumental por réplica de menos de dos minutos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bosch, L, Tor, M, Reixach, J & Estany J. 2009. Meat Sci. 82:432
- Eras J, Ferran J, Perpiña B, Canela R. 2004 J. Chromatogr. A 1047, 157-161.
- Reixach, J., Ros, R., Tor, M., & Estany, J. 2011. XIV Jornadas sobre Producción Animal.
- Muñoz,R, Vilaró,P, Eras,J, Estany,J & Tor,M. 2011. Rapid Commun. Mass. Spectrom. (aceptado 28/01/2011)
- Rule, D. C. 1997. Meat Sci., 46, 23-32.

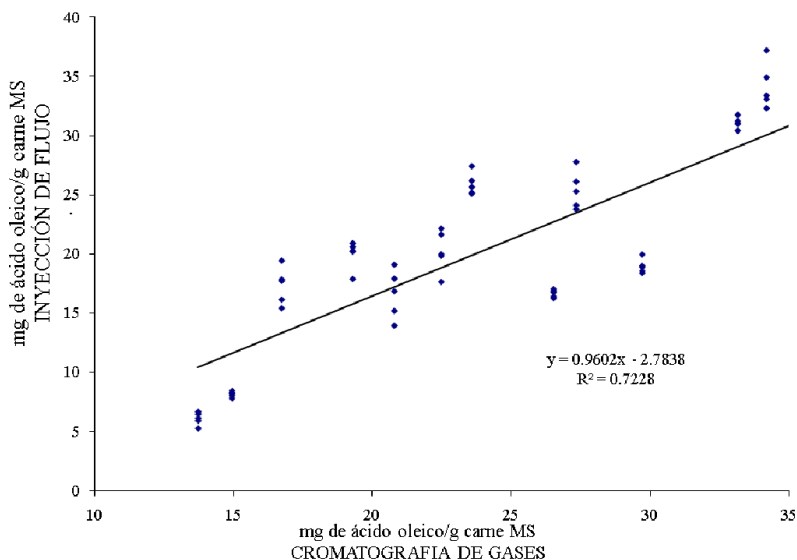


Figura 1. Comparación del análisis del ácido oleico en carne de cerdo mediante cromatografía de gases e inyección de flujo.

Tabla 1. Distribución de los costes variables del análisis del ácido oleico por FIA-MS y el perfil completo de ácidos grasos por GC-FID.

	CG/FID	FIA/MS
	%	%
Liofilitzación	1,7448	--
Picado de la muestra	9,8529	23,8806
Arena de mar	0,0257	--
Homogeneización	6,1581	--
Pesar muestra	6,1581	14,9254
BHT	0,0002	--
Tritridecanoína	--	0,0829
Tripentadecanoína	0,6158	--
Patrón externo	0,0547	--
Ácido oleico	--	0,0007
Ácido tridecanoico	--	0,0001
Ácido pentadecanoico	--	0,0001
KOH en metanol (5M)	--	0,0995
Trifluoruro de boro	1,779	--
Acético glacial	--	0,398
Acetonitrilo	--	0,2902
Metanol	0,0547	--
Etanol	--	0,0054
Eter de petróleo	--	0,4975
Hexano	0,3147	--
Dimetoxipropano	0,0205	0,0514
Esterificación	12,3161	v
Hidrolisis	--	29,8507
GC/FID	54,7383	--
FIA/HPLC	--	26,9486
Elaboración resultados	6,1581	2,9851
TOTAL	100	100

Agradecimientos: Trabajo financiado por la CICYT (refs. proyectos: AGL2003-05361; AGL2009-09779). Los autores de la comunicación agradecen a Teresa Giró y Anna Naco su especial colaboración en las tareas de laboratorio.

COMPARISON OF A RAPID METHOD FOR QUANTIFICATION OF OLEIC ACID IN PORK WITH RESPECT TO GAS CHROMATOGRAPHY SYSTEMS

ABSTRACT. This paper describes the application of a flow injection method based on mass spectrometry for quantitative determination of oleic acid in pork. The purpose of the method is to avoid lipid chromatography processes using a flow injection system based on electrospray ionization mass spectrometry. The oleic FIA analysis could be used as a suitable method for discriminating carcass samples for selection and labeling by oleic acid content when large numbers of pork samples must be processed in a short period of time

Keywords: oleic acid determination, FIA/MS method, intramuscular fat

DESCRIPCIÓN DEL AROMA DE LA CARNE DE OVINO

Bueno, M.¹, Resconi, V.C., Campo, M.M., Cacho, J., Ferreira, V. y Escudero, A.
¹Laboratorio del Análisis del Aroma y Enología. Instituto de Investigación e Ingeniería de Aragón. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, c/ Pedro Cerbuna 12, 50009 Zaragoza. E-mail: mobueno@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Una realidad del mercado de la carne de ovino es la estacionalidad en el abastecimiento de corderos. España es un importante productor y consumidor de la carne de cordero, no sólo fresca sino también congelada (Sañudo et al., 2000). Esta congelación intenta estabilizar el precio conservando la carne obtenida en épocas de exceso de oferta hasta las épocas del año donde la demanda es mayor. Y debe, además, asegurar la calidad nutricional de la carne y la calidad organoléptica de la misma. Una de las razones por las que el trabajo se ha centrado en el estudio del aroma es porque durante la conservación se previenen procesos de oxidación indeseada, sobre todo lipídica, y que se esperan que se plasmen en un aumento de compuestos volátiles carbonílicos (aldehídos y cetonas). Por otra parte, siempre se procesa la carne, no se consume cruda. En este procesado o cocinado que garantiza la seguridad microbiológica, la inactivación enzimática y la destrucción de sustancias tóxicas, también se producen nuevos colores, sabores y sobre todo olores. Por lo tanto, para poder controlar la calidad aromática de la carne y así ser capaces de ofrecer al consumidor una carne de calidad, previamente hay que caracterizar cuáles son los compuestos químicos aromáticamente relevantes en el aroma de la carne de cordero en situaciones de la vida cotidiana: cuando se cocina y cuando se consume.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los reactivos y disolventes utilizados en este trabajo fueron adquiridos en Merk (Darmstadt, Alemania), Panreac (Barcelona, España), Lancaster (Eastgate, UK), SAFC (Steinheim, Alemania), Fluka (Madrid, España) y Aldrich (Madrid, España). Se han usado corderos machos de 75 días de edad con un peso medio de $11,4 \pm 0,4$ kg y alimentados de la misma forma en condiciones intensivas. Tras el sacrificio, la canal se mantuvo refrigerada a 2-4 °C durante 24 h antes de la extracción del músculo (176 ± 14 g) *Longissimus lumborum* con la grasa subcutánea. Las muestras se empaquetaron a vacío y se mantuvieron a 2-4 °C hasta alcanzar 4 días de maduración. Las muestras frescas se analizaron seguidamente y una de ellas se mantuvo congelada a -18 °C durante un año antes del análisis. La descongelación de las muestras y el cocinado de los lomos se ha descrito previamente (Resconi et al., 2009). Para la obtención del extracto obtenido durante el cocinado se construyeron cartuchos de 100 mg de resina LiChrolut EN[®] en reservorios de 1 mL con lana de vidrio. Los cartuchos se introdujeron en el interior de una bomba extractora de gases PAS-500 calibrada a 500 mL·min⁻¹ y colocada en el centro de una campana recolectora de polimetacrilato de metilo que cubría la plancha. Para conseguir el extracto obtenido durante la ingesta de carne se construyeron cartuchos con 50 mg de las mismas resinas en reservorios de 3 mL. Los voluntarios fueron 8 panelistas, no fumadores, no embarazadas y sin enfermedades bucodentales graves. El análisis se llevó a cabo 2 horas después del desayuno y todos ellos se lavaron los dientes y enjuagaron con los mismos productos para homogeneizar los blancos. El músculo cocinado y cortado en 8 trozos se distribuyó a los panelistas que debían masticarlo al menos 20 veces antes de tragar, mientras inspiraban por la nariz y expulsaban el aire por la boca a través del cartucho. Todos los cartuchos se acondicionaron con diclorometano y se secaron a vacío antes de los análisis. Después se eluyeron con diclorometano/metanol 5% (v/v) (1 mL los cartuchos del cocinado y 500 µL el de cada panelista) y se concentraron hasta 200 µL bajo corriente de nitrógeno. Para localizar los compuestos aromáticamente relevantes se llevaron a cabo olfatometrías de los extractos concentrados en un cromatógrafo de gases Thermo 8000 series equipado con un puerto de sniffing (Ferreira et al., 2009) al igual que el cálculo de los índices de retención y de las frecuencias modificadas (%FM) (datos no mostrados). Para la posterior identificación de estos compuestos se tuvo que realizar una extracción total de los compuestos volátiles

(140 g de carne cocinada en un proceso repetido 14 veces con 40 mL de agua y 20 mL de diclorometano/metanol 1% (v/v) al que se le había adicionado 10 μL de BHT 100 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en metanol) seguida de un fraccionamiento en fase normal y el análisis de las fracciones obtenidas por cromatografía de gases multidimensional con olfatometría y espectrometría de masas (Ferreira et al., 2009). Los datos de %FM provenientes de las olfatometrías de los extractos se analizaron con un test de chi cuadrado (χ^2).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han considerado relevantes aquellos aromas que han obtenido un valor de %FM superior al 30% en cualquiera de los dos sistemas de extracción. De este modo finalmente se han localizado en una columna DB-WAX 42 zonas de olor importantes en el aroma de cordero, que corresponden a 51 compuestos de los cuales 42 de ellos han sido identificados y se recogen en la Tabla 1. Los compuestos pertenecen a 8 familias diferentes destacando los carbonilos y las pirazinas, que cubren el 50% de los compuestos identificados. Las identificaciones han tenido lugar por coincidencia de los índices de retención cromatográficos en una columna polar DB-WAX y apolar VF-5, olor, espectrometría de masas o inyección de los patrones puros.

Tabla 1. Odores encontrados en GC-O y GC-GC-O-MS en los distintos extractos.

ALDEHIDOS	ÁCIDOS	ALCOHOLES	CETONAS
heptanal	ácido butírico	isobutanol	1-octen-3-ona
octanal	ácido 3-metilbutírico	alcohol bencílico	Z-1,5octadien-3-ona
nonanal	ácido octanoico	1-octen-3-ol	
decanal			
Z-2-heptenal	ESTERES ETÍLICOS	FENOLES	OTROS
E-2-octenal	hexanoato de tilo	p y m-cresol	bencenometanotiol
Z-2-noenal	ciclohexanoato de etilo*	2,6-diclorofenol*	2-acetil-2-tiazolina
E-2-nonenal		vanillina*	2-pentilfurano
Z-2-decenal	PIRAZINAS		linalool
E,E-2,4-nonadienal	2,5-dimetilpirazina	ENOLONAS	furfuril etil éter
E,E-2,4-decadienal	2,6-dimetilpirazina	furaneol	2-fenoxietanol
metional	2-etil-3,5-dimetilpirazina	sotolon	2-acetil-1-pirrolina
2-metilbenzaldehído*	2-isopropil-3-metoxipiraxina*		
2-butil-2-octenal	2-isobutil-3-metoxipiraxina		
	2-sec-butil-3-metoxipiraxina		

Diecisiete de los compuestos identificados han obtenidos valores de %FM superiores al 50%. No se ha descrito ningún compuesto con olor a "cordero" o "lana" en este trabajo, lo que sugiere que es un conjunto de compuestos el que produce ese aroma característico a cordero. Por otra parte, sí se han descrito 7 compuestos con olor a carne (Z-2-heptenal, 2,5-dimetilpirazina, desconocido $\text{IR}_{\text{DB-WAX}} 1473/\text{IR}_{\text{VF-5}} 1168$, Z-2-decenal, 2-butyl-2-octenal, 2-acetil-2-tiazolina y E, E-2,4-decadienal). Uno de los resultados destacados del trabajo es la identificación de odorantes que nunca antes han sido descritos en el aroma del cordero. Estos compuestos (que vienen marcados con asterisco en la Tabla 1 son: 2-isopropil-3-metoxipiraxina, ciclohexanoato de etilo, metilbenzaldehído, 2,6-diclorofenol y 4-hidroxi-3-metoxibencaldehído (vanillina). Por otra parte, el test (χ^2) ha revelado que 7 zonas de olor (correspondientes a 11 compuestos) (Figura 1) varían significativamente entre los extractos ($p = 0,15$). Destacan sobre todo los elevados valores de %FM del hexanoato de etilo, furaneol y los ácidos butírico y 3-metilbutírico en la carne congelada y por el contrario las zonas del ácido octanoico y 2-etil-3,5-dimetilpirazina en la carne fresca.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación de la DGA (Proyecto PI046/08). Agradecer también la colaboración al Grupo Cooperativa Pastores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ferreira, V., San Juan, F.; Escudero, A.; Culleré, L.; Fernandez-Zurbano, P; Saenz-Navajas, M.P.; Cacho, J. (2009). *J. Agr. Food Chem.* 57(16): 7490-7498.
- Resconi, V. C., Campo, M.M.; Furnols, M.F.I.; Montossi, F.; Sañudo, C. (2009). *Meat Sci*, 83(1): 31-37.
- Sañudo, C., Enser, M.E.; Campo, M.M; Nute, G.R.; María, G.; Sierra, I.; Wood, J.D. (2000). *Meat Sci.* 54(4): 339-346.

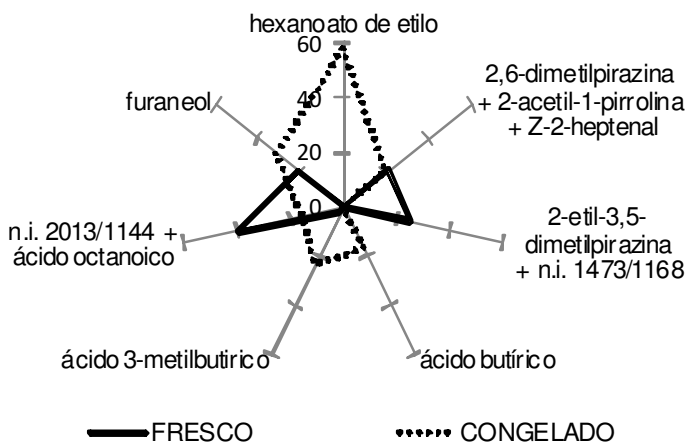


Figura 1. Gráfico radial de los %FM para las zonas de olor que difieren significativamente ($p = 0,15$) entre los extractos. (n.i.: no identificado)

DESCRIPTION OF THE AROMA IN LAMB

ABSTRACT: This work tries to characterize aromatically relevant chemicals in lamb thanks to two types of extracts: the first one attempted to collect the aroma released during cooking; and the second one, the aroma released during eating. With these extracts gas chromatography-olfactometry (GC-O) was performed and modified frequency percentage of the aromas was obtained, data which were useful to differentiate the most important compounds. After that, a total extraction and fractionation were carried out to simplify the extracts and gain sensitivity and selectivity in the identification of relevant compounds. As a result, 42 compounds have been identified. Moreover, 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, ethyl cyclohexanoate, methylbenzaldehyde, 2, 6-dichlorophenol and vanillin were described for the first time in lamb, although there were some olfactometric zones unidentified. No compounds that smelled as 'lamb' or 'wool' have been described in this paper. This implies it is a pool of odours which produces such a characteristic lamb aroma. Seven of the odour zones described (corresponding to 11 compounds) varied significantly among the different extracts ($p = 0.15$) according to modified frequency percentage data. Octanoic acid odour zone and 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazine odour zone were characteristic of fresh meat and ethyl hexanoate, furaneol, butyric and 3-methylbutyric acids were of frozen one.

Keywords: lamb; aroma, GC-olfactometry, freezing

ESTUDIO DEL EFECTO DEL MÚSCULO, EDAD Y TIPO DE RAZA EN EL COLÁGENO EN LA CARNE DE TERNEROS MEDIANTE META-ANÁLISIS

Blanco, M., Picard, B., Jurie, C., Agabriel, J., Micol, D., y Garcia-Launay, F.,
INRA UR1213 Herbivores, Site de Theix, 63122 Saint-Gènes-Champanelle, Francia
mireia.blanco-alibes@clermont.inra.fr

INTRODUCCIÓN

El colágeno es un grupo de proteínas del tejido conjuntivo que se encuentra exclusivamente en los animales en la naturaleza. Es una proteína mayoritaria del músculo estriado, pudiendo suponer entre 1 y 15% del peso del músculo en el vacuno, dependiendo del músculo (Purslow, 2005). La función del colágeno en el músculo es dar soporte a las células musculares y transmitir su fuerza contráctil al esqueleto y por lo tanto producir el movimiento. Además, el colágeno parece estar implicado estrechamente en el desarrollo del músculo (Bailey, 1985). El colágeno esta formado por tres cadenas de polipéptidos que contienen largas secuencias repetidas de tripéptidos. Esta estructura helicoidal se estabiliza mediante puentes intra- e inter-moleculares, dando lugar al colágeno insoluble.

El colágeno está relacionado negativamente con la terneza muscular pero de manera no consistente (Lepetit, 2008). De hecho, el contenido en colágeno total es el principal responsable de la dureza de la carne y es determinante en la variabilidad de la dureza encontrada entre distintos músculos (Purslow, 2005).

Diversos factores influyen en la cantidad y naturaleza del colágeno pero existen complejas interacciones entre ellos que complican su identificación. Recientemente, Schreurs y cols. (2008) con una base de datos del INRA analizaron el efecto del músculo y de la raza en el músculo *Semitendinosus* y sugerían repetir dicho análisis agrupando razas especializadas y no especializadas. Actualmente, dicha base de datos ha sido ampliada. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del tipo de músculo, el tipo de raza en tres músculos y la edad fisiológica sobre el contenido en colágeno total e insoluble en terneros enteros con la base de datos actualizada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos de contenido en colágeno total (n = 645) e insoluble (n = 633) utilizados para el meta-análisis proceden de una base de datos creada por el INRA a partir de 11 experimentos llevados a cabo en sus instalaciones para caracterizar la calidad de la carne de terneros enteros de razas francesas (Aubrac, Charoles, Limusin, Salers) en músculos localizados en diferentes zonas (*Longissimus*, *Semitendinosus* y *Triceps brachii*). En la base de datos se recoge el contenido total de colágeno (μg hidroxiprolina/mg MS), contenido de colágeno insoluble (μg hidroxiprolina/mg MS), músculo, peso al sacrificio, edad, raza y tipo de raza (Charolesa y Limusin "especializadas" y Aubrac y Salers "no especializadas"). Así mismo se incluyó la edad fisiológica del animal en el momento del sacrificio calculada según su peso al sacrificio dividido por el peso adulto del animal.

En primer lugar se comparó el efecto del músculo. Se analizó mediante un modelo mixto (PROC MIXED, SAS Inst. Inc., Cary, NC) usando REML para estimar la varianza de los componentes. Se consideró como efecto fijo el músculo y la edad fisiológica como covariable. El modelo inicial estudio el efecto lineal, cuadrático y cúbico de la edad fisiológica y su posible interacción con el músculo. El modelo incluyo como efecto aleatorio la raza anidada en el músculo, incluyendo el efecto aleatorio en el intercepto y coeficientes lineal, cuadrático y cúbico y su posible covarianza entre ellos (option UN). El parámetro de covariación se eliminó cuando $P < 0,07$ (St-Pierre, 2001). Los efectos aleatorios y fijos no significativos se eliminaron del modelo, excepto el efecto del experimento, que no se eliminó en ningún caso, tal y como recomiendan Sauvant y cols. (2008).

En segundo lugar se estudió el efecto del tipo de raza en terneros enteros en los tres músculos. Los modelos estadísticos únicamente difirieron del primer modelo en el efecto fijo, que fue el tipo de raza y en que solo se incluyó como aleatorio el efecto del experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El músculo *Longissimus* presentó el menor contenido en colágeno total e insoluble (Figura 1), tal y como ya se ha encontrado en otros estudios en terneros en crecimiento (Nishimura y cols., 1999; Stowlosky y cols., 2006). Independientemente del músculo estudiado, el contenido en colágeno total tiene una evolución cuadrática con la edad fisiológica del animal, lo cual coincide con lo encontrado por Boccard y cols. (1979). Dichos autores quienes encontraron que el contenido en colágeno total en el músculo es máximo al nacimiento, desciende posteriormente hasta que al llegar la pubertad vuelve a incrementarse.

Con respecto al efecto del tipo de raza, el efecto es menos claro que en el efecto del músculo. En el músculo *Longissimus*, ambos tipos de razas presentan una similar evolución cúbica con la edad fisiológica del contenido en colágeno total e insoluble (Figura 2). Sin embargo, en músculos con mayor contenido en colágeno aparecen diferencias según el tipo de raza. Así, en el músculo *Semitendinosus*, el colágeno total e insoluble están afectados de manera cuadrática por la edad fisiológica y su evolución es diferente dependiendo del tipo de raza. En el músculo *Triceps brachii*, el colágeno total no varía con la edad fisiológica en las razas "no especializadas" mientras que se incrementa en las especializadas. El colágeno insoluble tiene una evolución cuadrática con la edad fisiológica y al igual que en el *Semitendinosus*, las razas no especializadas presentar mayor contenido que las especializadas durante las edades más tempranas. Según Sañudo y cols. (1998), las razas precoces presentan más colágeno total e insoluble que las tardías. Sin embargo, las interacciones entre la edad fisiológica y el músculo y la raza complican la determinación clara de cada uno de los efectos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bailey, A. J. (1985). *J. Anim. Sci.* 60, 1580-1587 • Boccard, R. L., Naudé, R. T., Cronje, D. E., Smit, M. C., Venter, H. J., Rossouw, E. J. (1979). *Meat Sci.* 3, 261-280 • Lepetit, J. (2008). *Meat Sci.* 80, 960-967 • Nishimura, T., Hattori, A., Takahashi, K. (1999). *J. Anim. Sci.* 77, 93-104 • Purslow, P. P. (2005) *Meat Sci.* 70, 435-447 • Sañudo, C., Albertí, P., Campo, M. M., Olleta, J. L., Panea, B. (1998). *Arch. Zootec.* 48, 397-402. • Sauvart, D., Schmidely, P., Daudin, J. J., & St-Pierre, N. R. (2008). *Animal*, 2, 1203-1214. • Schreurs, N. M., Garcia, F., Jurie, C., Agabriel, J., Micol, D., Bauchart, D., Listrat, A., Picard, B. (2008). *J. Anim. Sci.* 86, 2872-2887. • St-Pierre, N. R. (2001). *J. Dairy Sci.* 84:741-755 • Stolarski, G. D., Baird, B. E., Miller, R. K., Savell, J. W., Sams, A. R., Taylor, J. F., Sanders, J. O., Smith, S. B. (2006). *Meat Sci.* 73, 475-483.

Agradecimientos: al personal del matadero y laboratorios del INRA y al Consejo Regional de la Auvernia por su apoyo económico.

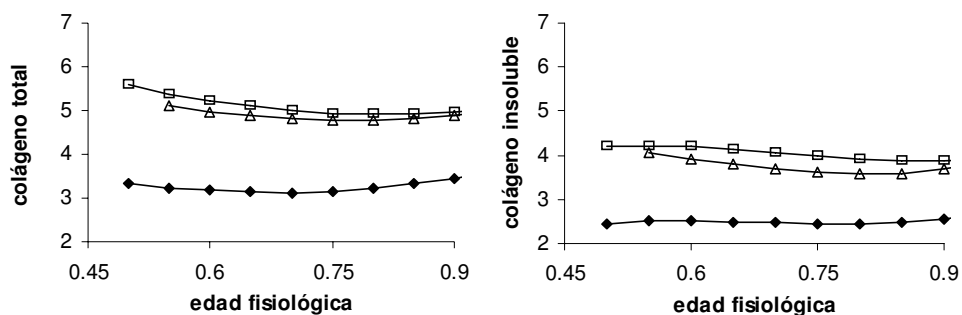


Figura 1. Evolución del colágeno total e insoluble (μg hidroxiprolina/mg MS) con la edad fisiológica según el músculo estudiado en terneros enteros. \blacklozenge *Longissimus*, \square *Semitendinosus*, \triangle *Triceps brachii*

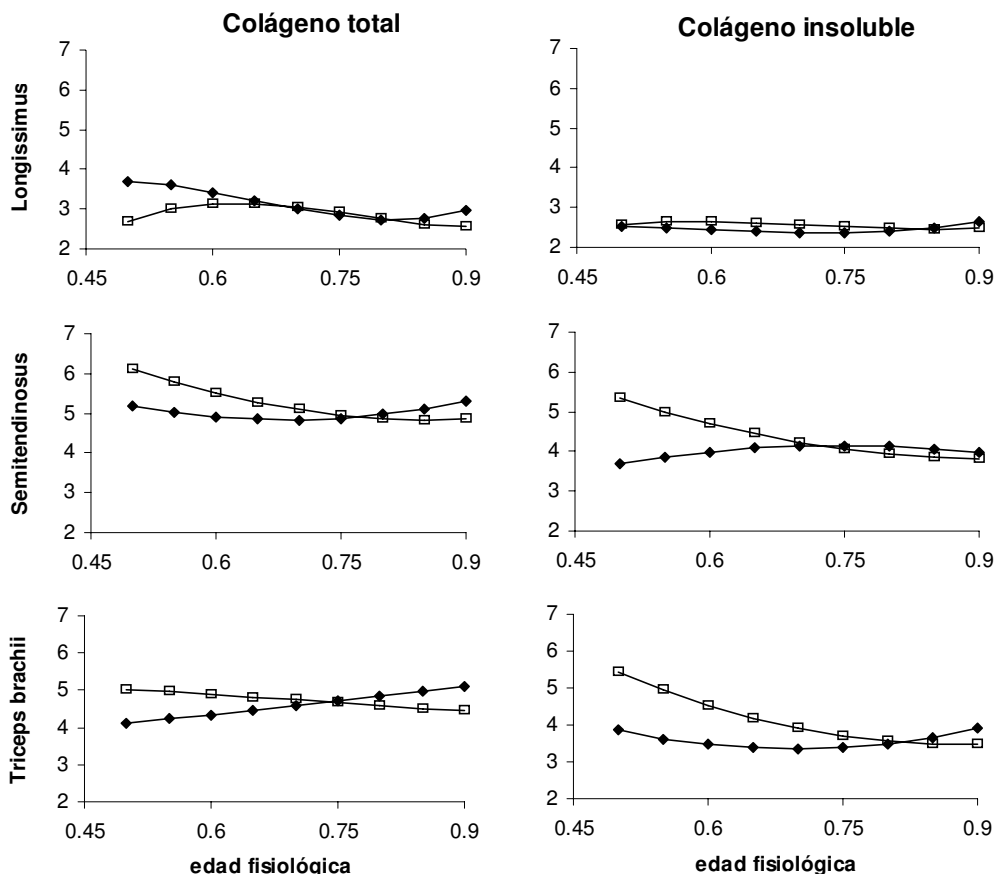


Figura 2. Evolución del colágeno total e insoluble (μg hidroxiprolina/mg MS) con la edad fisiológica según el tipo de raza en terneros enteros (\blacklozenge especializada, \square no-especializada)

MUSCLE, PHYSIOLOGICAL AGE AND TYPE OF BREED EFFECTS IN BEEF COLLAGEN CONTENT OF YOUNG BULLS

ABSTRACT: The aim of the study was to determine the effect of muscle, physiological age and type of breed in total and insoluble collagen content of entire young bulls. A database has been created by INRA with data obtained in 11 experiments of young bulls. The data were obtained from different muscles (*Longissimus*, *Semitendinosus* and *Triceps brachii*) and breeds (beef breeds: Charolais and Limousin; non-beef breeds: Aubrac and Salers). Meta-analyses were used to determine the effects of the factors cited in total and insoluble collagen content. Concerning muscle effect, *Longissimus* muscle contained lower total and insoluble collagen contents than *Semitendinosus* and *Triceps brachii* muscles. Moreover, total collagen content showed a quadratic evolution with physiological age in the three muscles. The evolution in *Longissimus* and *Semitendinosus* was similar but there was a delay in the *Triceps brachii* muscle. The type of breed had effect on total and insoluble collagen content in the three muscles but to a minor extent than muscle effect. Total and insoluble collagen content showed a cubic, quadratic and linear relationship with physiological age in *Longissimus*, *Semitendinosus* and *Triceps brachii* muscles, respectively.

Keywords: collagen, beef

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN PARA LA MATANZA DEL CERDO

Fàbregas i Comadran, X.¹ y Llonch i Obiols, P.

¹C/ Vidal i Graners, 28, 1r 2a. 08173 Sant Cugat del Vallès. xfabregues@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

La relación entre el hombre y el cerdo a lo largo de la historia ha sido estudiada desde la antropología, la historia de la alimentación y la producción animal. Distintos autores españoles han escrito sobre la cría y la matanza del cerdo, desde la perspectiva de fiesta ritual, del procedimiento y de las técnicas empleadas y de los productos obtenidos: Agustí (1988), Cortada y de Manjarrés (1980), Serra (1980), Amades (1983), Dalmau (1946), Vilarrasa (1975), Violant i Simorra (1981, 2003), Fàbregas i Surroca y Gumí (1979), Capel et al. (1997), Llobet (1990), Luján (1990), Castañer y Fuertes (1991), Cunqueiro y Filgueira (1993) y Fàbrega (1995). En estos últimos años, han tratado sobre la matanza en las distintas comunidades autónomas españolas, Pont (2002), Castells (2003), Solà (2003), Aguilar (2004), Batalla (2007), Fugarolas y Vilà (2007), Barbal (2008), Junquera (2008), Ferrer (2009), Rangil (2009), Rubio y Cubillo (2009) y Fàbregas i Comadran y Llonch (2010), con una visión de vida rural; Espeitx et al. (2001), Gázquez (2000), Nadal (2003), Payeras y Falconer (2005), Roigé y Estrada (2008) y Nadal et al. (2010), desde un enfoque antropológico y Vila (2000), Vázquez Montalbán (2001, 2004), Rivas (2008) y Font (2009), desde la gastronomía. Como antecedente a este protocolo, Roncalés y Martínez (2001) estudiaron exhaustivamente la matanza en el valle del Ebro. Las publicaciones de MAPA (1983), Torrado (1985), CSC (1989), Amate (1992), Capel (1992), CSSS (1995), Fàbrega (1995), Mestre (1998) y Dolcet y Pons (2010) tratan específicamente de los productos del cerdo, según su origen geográfico.

La mayoría de comunidades autónomas españolas disponen de normativas específicas sobre la matanza domiciliaria del cerdo, a veces asociada al control sanitario de la caza, en relación con la investigación de triquinas. En la Unión europea, el Reglamento 2075/2005 regula el control oficial de la presencia de triquinas en las carnes de consumo. En el ámbito estatal, el RD 640/2006 matiza ciertas condiciones establecidas en el reglamento anterior.

El objetivo de este trabajo consiste en proponer una metodología pluridisciplinar común de investigación, que sea aplicable en distintos países del ámbito internacional y que permita analizar y comparar las distintas tipologías de la matanza tradicional del cerdo, sus bases técnicas y los productos obtenidos, para conocer los cambios ocurridos, principalmente en los últimos cincuenta años y describir la realidad actual de la matanza.

MATERIAL Y MÉTODOS

La propuesta se basa en la realización de visitas concertadas con entrevistas personales por dos veterinarios. Las personas escogidas para pasar el protocolo se clasifican en: (1) familias que han dejado de hacer la matanza (entrevista histórica), (2) familias que aún celebran la matanza (*in situ*, el mismo día de la matanza), (3) familias que aún la hacen, aunque la entrevista no se haya realizado durante la matanza (*a posteriori*) y (4) matarifes y mondongueras en activo (*a posteriori*) o jubilados (histórica). El estudio es, por lo tanto, de carácter diacrónico y también sincrónico. El protocolo consta de cuatro cuestionarios temáticos: antecedentes, antropológico, de salud pública y metodológico (material, personal y procedimiento). Se adjunta al protocolo un anexo con la terminología local recogida durante las entrevistas.

Se establece un muestreo representativo mínimo de una matanza por comarca, abarcando en el caso de España, todas las comarcas de cada comunidad autónoma española. Los cuestionarios se cumplimentan por escrito, a partir de las respuestas de los entrevistados y de las observaciones realizadas *in situ*. Se tomarán fotos digitales de las distintas fases del procedimiento y de los productos. El análisis estadístico de los datos se procesará con el paquete SAS (2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De la bibliografía consultada, se concluye que existen marcadas diferencias geográficas por lo que respecta a la posición de sacrificio, a la aplicación y al orden de las operaciones de chamuscado-escaldado, al tipo de evisceración, a los productos elaborados y a los ingredientes empleados, especialmente condimentos y especias. Por ello, se ha elaborado un protocolo abierto, que incluya todas estas posibles variaciones. De un cuestionario inicial, evaluado y mejorado a partir de los resultados de las visitas realizadas, se ha llegado a un protocolo, que ya ha sido ensayado favorablemente en Cataluña por Fàbregas y Llonch (2010).

El cuestionario propuesto abarca los siguientes aspectos:

1. Antecedentes: número (n^º), tipo (*in situ*/histórica/a posteriori/profesional), anonimato, temporada, matanza y/o elaboración, identificación (día, hora-horario, lugar, persona entrevistada –vinculación con sector cárnico–, matarife y mondonguera actuantes), tipo de poblamiento, n^º de años de celebración, n^º de cerdos sacrificados y temporización, n^º mínimo de participantes, n^º de días de matanza-elaboración, cambios en los productos elaborados, duración y venta de productos y problemas para realizar la matanza.
2. Antropológico: percepción de la matanza (definición, aspectos más importantes, comidas y costumbres típicas, elaboración de productos tradicionales/nuevos, clasificación de la actividad, motivos de preservación); bienestar animal (valoración del aturdimiento y percepción de su obligatoriedad); ventajas, inconvenientes, limitaciones y organización futura de la matanza; diferenciación por sexo y edad en las actividades; participación de mujeres menstruantes; influencia de la fase lunar; festividad de San Antonio como día hábil de matanza, obsequio del presente y destinatarios del mismo.
3. Salud pública: gestiones administrativas municipales (plazos, tasas, material, local, control veterinario: ante-mortem, post-mortem, detección de triquinas), vinculación del veterinario actuante, comunicación matarife-veterinario-veterinario oficial, causas de no aptitud al consumo humano, eliminación y destrucción de carnes no aptas e investigación de triquinas (número de muestras/cerdo, peso de la muestra, músculos de elección, método, formación de los actuantes).
4. Metodológico: 1. Personal: matarife y mondonguera (edad, procedencia). 2. Material: animal (libro de explotación ganadera, animal declarado, documentos sanitarios de movimiento, ciclo cerrado/cebo, sexo del cuidante, control de roedores, base genética, sexo, castración, desparasitación, alimentación, PVS (kg.), edad sacrificio (meses), PCC (kg.), RC (%), conformación, estado de engrasamiento (espesor tocino dorsal), calidad de la carne y de la grasa, costes de la matanza (lechón, alimentación, castración, tratamientos veterinarios, cerdo cebado para sacrificio, matarife, mondonguera, tripas, sal, especias, investigación de triquinas)); utensilios, equipos e instalaciones (cuchillos, hachas, ganchos, soportes, hogar, material de combustión para el chamuscado y las calderas, recipientes, agujas, huso para voltear tripas, cuerda para atar, tecnología cárnica –picadoras y/o embutidoras (pertenencia, medidas de cuchillas y diámetros de placas y taladros según tipo de masa), amasadora, caldera industrial–, tecnología del frío –natural, neveras y congeladores domésticos, cámaras de refrigeración y de congelación industriales–, locales –porqueriza, de sacrificio, obrador, de secado y curación–). 3. Procedimiento: n^º horas de ayuno; a) conducción (tipo y material utilizado); b) inmovilización (n^º de personas y material); c) aturdimiento (método –características técnicas–, lugar de aplicación, pertenencia del equipo, valoración del bienestar animal); d) sacrificio y faenado (tipo de canal –lomo/chuleta–; lugar/local; equipo/material; posición horizontal/vertical colgado o inclinado; sangrado, recogida y manipulación de la sangre; chamuscado y/o escaldado –aplicación, posición y orden de estas operaciones, T^ª/tiempo y material de escaldado–; pelado, afeitado y repasado (material); lavado final; corte de patas y cabeza; extracción de uñas; evisceración (vertical ventral/horizontal dorsal); limpieza de tripas, vejiga y estómago (aromatizantes, calibre y especias de procedencia); subproductos y residuos (tipos y destino); división longitudinal de la canal); e) pesado (material, partes); f) oreo (n^º de horas, media canal/piezas/masas, local); g) despiece (partes, piezas y despojos; escandallo (kg/%); aptitud/destino de las piezas; estado; tratamientos –congelación, picado, salado, adobado, curado, ahumado, escaldado, cocción húmeda/seca, fusión, para productos técnicos (jabón, etc.)–, vida útil

de las carnes, destino culinario); h) descarnado, descortezado y troceado; i) elaboración (tipos de masas y maduración –T^a/tiempo–, productos –clasificación/tipos, % grasa y carne de cerdo/otras grasas y carnes, ingredientes (piezas de carne, despojos, tipo de grasa, condimentos y especias, vegetales, vinos y licores, aditivos, etc.)–, tratamientos –T^a/tiempo/%HR, equipos, mermas en cocidos y curados–, conservación –T^a/tiempo–, presentación –medidas, sección–, preparación para el consumo).

5. Anexo: Terminología local en las distintas lenguas y dialectos hablados.

El protocolo propuesto se muestra como una herramienta eficaz para describir y analizar las percepciones y metodologías actuales de la matanza tradicional del cerdo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Pujol, A. 2004. Proa. Bcn. • Agustí, M. 1988. Alta Fulla. Bcn. • Amades, J. 1983. Vol. V. Salvat-Ed. 62. Bcn. • Amate, P. 1992. MAPA. El País-Aguilar. Mad. • Barbal Espot, A. X. 2008. Garsineu. Tremp. • Batalla, A. 2007. Garsineu. Tremp. • BOE. 2006. RD 640/2006. • Castañer, A., Fuertes, T. 1991. Alianza. Mad. • Castells Serra, J. 2003. Garsineu. Tremp. • Capel, J.C. 1992. MAPA. El País-Aguilar. Mad. • Capel, J.C., Gómez, E., Lapitz, J.J., Méndez Riestra, E., Serradilla, J.V., Sueiro, J.V. 1997. R&B. Bio. • Cortada y Sala, J., De Manjarrés, J. 1980. Arch. Trad. Pop. n^o 8. Olañeta. Bcn. • CSC. 1989. Junta Extremadura. Mérida. • CSSC. 1995. Serv. Public. Ovd. • Cunqueiro, A., Filgueira Iglesias, A. 1993. Everest. Len. • Dalmau, A.R. 1946. Millá. Bcn. • DOCE. 2005. R 2075/2005. • Dolcet Llaveria, J., Pons i Argimon. 2010. DAAR-Ed. 62. Bcn. • Espeix, E., Cáceres, J, Massanés, T. 2001. CPCPTC. Bcn. • Fàbrega, J. 1995. La Magrana. Bcn. • Fàbregas i Comadran, X., Llonch i Obiols, P. 2010. *VIII Cong. Intern. Dieta Mediterránea. Abstract Book, p. 196-197.* Bcn. • Fàbregas i Surroca, X., Gumí, J. 1979. Ed. 62. Bcn. • Ferrer i Alòs, L. 2009. Saga. Bcn. • Font, M. 2009. Triangle Postals. Sant Lluís. • Fugarolas i Masó, J., Vilà i Camps, J. 2007. Fogars de la Selva. • Gázquez Ortiz, A. 2000. Alianza. Mad. • Junquera Rubio, C. 2008. Edilesa. Trobajo del Camino. • Luján, N. 1990. La Campana. Bcn. • Llobet, S. 1990. Museu–AEG. Granollers. • MAPA. 1983. Catálogo de embutidos y jamones curados de España. MAPA. Mad. • Mestre, R. 1998. Plaza&Janés. Bcn. • Nadal Subirà, E. 2003. CPCPTC. Bcn. • Nadal Subirà, E., Iglesias Ricou, J.R., Estrada Bonell, F. 2010. CPCPTC. Bcn. • Payeras, L., Falconer, J. 2005. IIEIB. Pmi. • Pont, M. 2002. Proa. Bcn. • Rangil, D. 2009. Impr. Romanyà-Valls. Capellades. • Rivas Quintas, E. 2008. Gráf. Orensanas. Ourense. • Roigé, X, Estrada, F. 2008. Gen. de Cat. Bcn. • Roncalés Rabinal, P., Martínez Luna, L.A. 2001. Dip. de Zaz. Zaz. • Rubio Pérez, L.M., Cubillo de la Puente, R. 2009. Edilesa. Trobajo del Camino. • SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, 1999-2001. • Serra i Boldú, V. 1980. *Arx. Trad. Pop. Fas. 1. p. 41-50.* Bcn. • Solà i Mas, J. 2003. CPCPTC. Bcn. • Torrado, L. 1985. FECIC-DARP. Bcn. • Vázquez Montalbán, M. 2001. Mondadori. Bcn. • Vázquez Montalbán, M. 2004. Ed. 62. Bcn. • Vila Medinyà, J.M. 2000. Dip. de Girona. Gro. • Vilarrasa i Vall, S. 1975. Impr. Maideu. Ripoll. • Violant i Simorra, R. 1981. Obra Oberta, 3. El Pedris, 8. p. 11-36. Alta Fulla. Bcn. • Violant i Simorra, R. 2003. Alta Fulla. Bcn.

RESEARCH PROTOCOL OF TRADITIONAL PIG SLAUGHTER

ABSTRACT: A research protocol of traditional domestic pig slaughter is proposed. To carry on with the study, a veterinarian interviewed different people with a questionnaire that included five topics: background, anthropology, public health, methodology (staff, equipment and procedures) and local vocabulary. With the aim of determine synchronic differences, they where interviewed families who still perform traditional slaughter (*in situ* slaughter and post-slaughter questionnaire) and active slaughterman. To determine the diachronic changes, they were interviewed families that have left this tradition (historic questionnaire) and families that still perform it and retired slaughterman. A representative sample was considered one pig traditional slaughter for each region (*comarca*). The proposal protocol has been repeatedly tested and is considered appropriate to describe and analyse the traditional domestic pig slaughter.

Keywords: pig, traditional slaughter, protocol.

EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE CHÍA (*Salvia hispanica* L.) SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA CALIDAD DE LA CANAL DE CORDEROS. PRIMEROS RESULTADOS.

Mendizabal¹, J. A., Eguinoa², P., Díaz¹, J., Arana¹, A., Maeztu², F., Insausti¹, K., Sarriés¹, M. V., Soret¹, B., Beriain¹, M. J. y Purroy¹, A.

¹ETSIA. Universidad Pública de Navarra. Campus de Arrosadía, 31006 Pamplona.

²ITG Ganadero. Avda. Serapio Huici 22. 31610 Villava. Navarra. (jamendi@unavarra.es)

INTRODUCCIÓN

Con el fin de reducir la incidencia de las enfermedades cardiovasculares en los países desarrollados, diferentes organismos encargados de velar por la salud humana recomiendan mantener en la dieta una adecuada relación entre los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y los saturados (AGS) incidiendo, para ello, en la necesidad de un mayor consumo de AGPI de la serie n-3, como son el ácido linoléico (18:3n-3), ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5n-3) y ácido docosahexanoico (DHA, 22:6n-3), ya que se ha constatado una asociación entre el consumo de ácidos grasos de esta serie, en particular de los EPA y DHA, y la reducción de la tendencia a padecer enfermedades cardiovasculares (OMS, 2005; Gebauer et al., 2005).

Por ello, se están utilizando diferentes materias primas en los piensos de rumiantes como son la semilla de lino, determinados tipos de aceites de pescado o algas marinas, todas ellas ricas en AGPI de la serie n-3 (Arana et al., 2011). Otra materia prima que ha sido utilizada con éxito en aves (Azcona et al., 2008), conejos (Meineri et al., 2010) y porcino (Coates y Ayerza, 2009) es la Chia (*Salvia hispanica* L.), una planta oleaginosa que constituía uno de los pilares de la alimentación de las civilizaciones precolombinas del continente americano y que posee un alto contenido en AGPI de la serie n-3 (Ayerza y Coates, 2006). Los resultados obtenidos en dichas experiencias muestran que, por efecto de la ingestión de chía, el perfil de ácidos grasos de la carne varía significativamente, mejorando la relación n-6/n-3 hasta valores de 3:1 sin que las características organolépticas y sensoriales de la carne se vean afectadas. Sin embargo, en los rumiantes, donde a diferencia de los monogástricos, existe un efecto importante de la biohidrogenación en el rumen, no se han realizado todavía experiencias estudiando el efecto de la utilización de chía en las raciones de cebo.

Por tanto, el objetivo de la presente experiencia ha sido estudiar el efecto que la utilización de chía en el cebo de corderos tiene sobre la calidad de la canal, de la carne y sobre el perfil de ácidos grasos. En esta comunicación se presentan los primeros resultados relativos a los parámetros de crecimiento y a la calidad de la canal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 31 corderos machos de raza Navarra procedentes del rebaño experimental que el ITG Ganadero tiene en la finca "El Serrón" en Valtierra (Navarra). Los corderos fueron distribuidos durante el cebo en tres grupos según el alimento recibido: Lote *Control* (pienso concentrado comercial; n=9); Lote *Lino* (pienso enriquecido con un 10% de semilla de lino; n=11); Lote *Chia* (pienso enriquecido con un 10% de semilla de de chía; n=11). En la Tabla 1 se muestra la composición en materias primas y la composición química de los 3 piensos.

El sacrificio de los corderos tuvo lugar cuando estos alcanzaron un peso medio de 26 kg y se llevó a cabo en el matadero "La Protectora" de Pamplona. El sacrificio, faenado y clasificación de las canales se realizó siguiendo el método de Colomer et al. (1988). Así mismo, a las 24 horas *post mortem* se determinó el pH y el color de la grasa (región dorsal a la altura de la 12ª costilla) y el color de la carne (músculo *latissimus dorsi*) (Beriain et al., 2000).

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante análisis de varianza con el programa informático SPSS 17.0, considerando el tipo de pienso como factor fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran las características de crecimiento y de la canal de los corderos de los 3 grupos estudiados. En ella se observa que no hubo diferencias significativas entre grupos de corderos en la velocidad de crecimiento, oscilando los valores de ganancia media diaria obtenidos alrededor de 300 g/d, valor que puede considerarse satisfactorio para corderos de raza Navarra (Beriain et al., 2000). Así mismo, no se encontraron diferencias

significativas entre lotes en el grado de engrasamiento de la canal (nota comprendida entre 2+ y 3-), así como en el resto de parámetros de engrasamiento como el espesor de la grasa dorsal y la cantidad de grasa pelviorrenal, estando dichos valores comprendidos en los requerimientos de la IGP Cordero de Navarra (Eguinoa et al., 2004).

Con respecto al pH no se obtuvieron diferencias entre lotes, pudiendo considerarse los valores de pH obtenidos a las 24 horas *post-mortem* como normales para este tipo de canales ovinas (Berriain et al., 2000). Únicamente, se encontraron pequeñas diferencias entre lotes de corderos en el color de la grasa, de manera que los corderos del lote Lino tuvieron un mayor valor de luminosidad que los del lote control (coordenada L*; P=0,008) y los corderos del lote Chía una grasa algo más amarillenta que los del control (coordenada b*; P=0,03). Sin embargo, estas diferencias detectadas instrumentalmente no fueron percibidas por los clasificadores a la hora de evaluar y clasificar las canales en el matadero.

En definitiva, salvo las pequeñas diferencias arriba indicadas, puede concluirse que la utilización durante el cebo de corderos de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados (piensos enriquecidos con un 10% de lino o de chía) no muestra efecto significativo sobre el crecimiento y las características de la canal de corderos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayerza, R, Coates, W. 2006. Chía. Redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas. Ed. Nuevo Extremo. Buenos Aires.
- Azcona, J. O., Schang, M. J., García, P. T., Gallinger, C., Ayerza, R., Coates, W. 2008. Canadian J. Anim. Sci. 88(2): 257-269.
- Berriain, M. J, Horcada A., Purroy, A., Lizaso, L., Chasco, J., Mendizabal, J. A. 2000. J. Anim. Sci. 78: 3070-3077.
- Coates, W., Ayerza R., 2010. J. Anim. Sci. 87(11): 3798-3804.
- Colomer, F., Delfa, R., Sierra, I. 1988. Cuadernos INIA 17: 19-41.
- Eguinoa, P., Granada, A., Lanás, S. 2004. Navarra Agraria, nov-dic 2004: 31-37.
- Gebauer, S. K., Psota, T. L., Harris, W. S., Kris-Etherton, P. M. 2006. American J. Clinic. Nutr. 83, 6: S1526-1535S.
- Meineri, G., Cornale, P., Tassone, S., Peiretti, P. G. 2010. Italian J. Anim. Sci. 9(1): e10.
- OMS, 2005. Avoiding heart attacks and strokes. World Health Organization, Ginebra, Suiza.

Agradecimientos: El presente trabajo forma parte de un Proyecto de Investigación financiado por el Departamento de Educación del Gobierno de Navarra (Res. 228/2008-2296).

Tabla 1. Composición en materias primas y composición de los diferentes piensos utilizados durante el cebo de los corderos (Control: pienso comercial; Lino: enriquecido con 10% de semilla de lino; Chía: enriquecido con 10% de semilla de chía).

	Control	Lino	Chía
<i>Composición Materias Primas</i>			
Cebada (%)	81,2	69,7	73,3
Soja (%)	15,2	11,2	12,6
Lino (%)	--	10,0	--
Chía (%)	--	--	10,0
<i>Composición Química</i>			
EM (Mcal/kg)	2,7	2,8	2,8
PB (%)	16,7	17,0	17,7
EE (%)	3,1	4,8	4,1
FB (%)	4,0	4,5	5,3
Cenizas (%)	9,6	8,7	8,9

Tabla 2. Características de crecimiento y de la canal (medias y error estándar medio) de los corderos en función del tipo de concentrado ingerido (Control: pienso comercial; Lino: enriquecido con 10% de semilla de lino; Chía: enriquecido con 10% de semilla de chía).

	Control	Lino	Chía	E.E.	P
Peso inicial (kg)	16,6	16,8	16,9	0,31	0,76
Edad inicial (kg)	55	58	57	1,3	0,49
Peso sacrificio (kg)	26,4	26,6	26,7	0,30	0,79
Edad sacrificio (d)	91	88	89	2,8	0,63
GMD (g/d)	282	327	307	17,1	0,23
Ingestión pienso (kg/anim.) ¹	29,6	26,9	27,3		
IC pienso (kg/kg) ¹	3,02	2,74	2,79		
PCC (kg)	11,5	11,4	11,5	0,15	0,95
PCF (kg)	11,3	11,2	11,3	0,15	0,87
RC (%)	42,8	42,1	42,3	1,07	0,46
EC (1-15)	6	6	6	0,4	0,98
EE (1-15)	6	7	6	0,3	0,31
EGD (mm)	2,6	2,5	3,0	0,24	0,21
Grasa PR (g)	189	187	168	14,2	0,50
pH _{24h}	5,49	5,49	5,50	0,008	0,60
Color de la grasa					
L*	66,4 ^b	69,3 ^a	67,7	0,59	0,01
a*	3,91	3,87	4,76	0,412	0,27
b*	5,94 ^b	6,41	7,45 ^a	0,378	0,03
C*	7,13 ^b	7,52	8,91 ^a	0,521	0,07
H*	57,0	58,8	58,6	1,62	0,72
Color de la carne					
L*	51,6 ^b	53,5 ^a	53,3	0,59	0,08
a*	18,35	17,38	16,33	0,651	0,15
b*	8,99	8,18	7,68	0,512	0,22
C*	20,52 ^a	19,34	18,10 ^b	0,667	0,08
H*	26,1	25,3	25,2	1,45	0,89

Comparación entre lotes: letras diferentes $P < 0,05$; letras iguales o ausencia de letras $P > 0,05$.

¹Estimado por lote.

EFFECT OF CHIA (*Salvia hispanica* L.) SUPPLEMENTATION ON GROWTH PERFORMANCES AND CARCASS CHARACTERISTICS OF LAMBS. PRELIMINARY RESULTS.

ABSTRACT: Thirty one Navarra breed lambs were utilized to study the effect of feeding Chia seeds on lamb growth and carcass characteristics. The lambs were assigned to three groups: *Control*, fed on a barley and soya concentrate, *Linseed*, receiving the same concentrate feed but including a 10% of linseed and *Chia*, including a 10% of chia, respectively. Lambs were studied from 16 to 27 kg live weight. The three lamb groups showed high average daily gain (around 300 g/d). There were no significant differences between lamb groups on growth, carcass and fattening parameters. Overall, data suggest that Chia seeds give satisfactory results in finishing lamb diets.

Keywords: fatty acids, chia, linseed, lambs

ENRIQUECIMIENTO EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y OMEGA-3 DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA NAVARRA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE SEMILLA DE LINO Y ALGAS MARINAS. I PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL Y ENGRASAMIENTO

Arana¹, A., Eguinoa², P., Díaz J., Mendizabal¹, J. A., Maeztu² F., Insausti¹, K., Soret¹, B., Beriain¹, M. J. y Purroy¹, A.

¹ETSIA. Universidad Pública de Navarra. Campus de Arrosadia, 31006 Pamplona.

²ITG Ganadero. Avda. Serapio Huici. Villava. Navarra. (aarana@unavarra.es)

INTRODUCCIÓN

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de la serie n-3 son considerados saludables por lo que son recomendados en la dieta humana. El precursor de los ácidos grasos PUFA de cadena larga de la serie n-3 es el ácido graso esencial alfa-linolénico (C18:3 n-3), a partir del que se sintetizan ácidos grasos de esta serie de mayor longitud como son el ácido graso eicosapentanoico (EPA, C20:5, n-3) y el ácido docohexanoico (DHA, C22.6 n-3). Sin embargo, se ha observado que es pequeña la eficiencia de este proceso (Esner, 2001).

La inclusión de semilla extrusionada de lino en la dieta de corderos en cebo incrementa la cantidad de ácido linolénico de la carne (Elmore et al., 2000; Bas et al., 2007). Asimismo la incorporación de microalgas marinas en la dieta de corderos provoca un aumento en los niveles de EPA y DHA en la carne (Papadopoulos et al., 2002; Elmore et al., 2005).

En este trabajo se pretende analizar el efecto de la inclusión de dos fuentes alimenticias ricas en PUFA de la serie n-3 y con diferente contenido en EPA y DHA, como son el lino y las microalgas marinas sobre el crecimiento de los corderos, la calidad de la canal y de la carne y su composición en ácidos. En esta primera comunicación se presentan los resultados relativos a los parámetros de crecimiento, de la calidad y engrasamiento de la canal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 33 corderos machos de raza Navarra nacidos y cebados en la granja experimental del ITG Ganadero en Valtierra (Navarra). Los corderos fueron distribuidos durante el cebo en tres lotes: Lote *Control* (C) (pienso concentrado convencional; n= 11); Lote *Lino* (L) (pienso enriquecido con un 10% de semilla de lino; n= 11); Lote *Lino + Algas* (LA) (pienso enriquecido con un 5% de semilla de lino y un 2% de microalgas; n= 11). Para este último lote se estableció que la cantidad de lípidos aportados por las algas fuera la misma que la aportada por el lino. En la Tabla 1 se muestra la composición en materias primas y la composición química de los 3 piensos estudiados.

Cuando los animales alcanzaron un peso medio de 27 kg se sacrificaron en el matadero "La Protectora" de Pamplona. El sacrificio y el faenado, así como la clasificación de las canales, se realizó siguiendo el método de Colomer et al. (1988). La disección de la décima costilla y el % de grasa intramuscular se determinó mediante análisis de imagen (Mendizabal et al., 2005)

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante análisis de varianza considerando el tipo de pienso como factor fijo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran las características de crecimiento, y de la calidad y engrasamiento de la canal de los corderos de los tres grupos estudiados. En ella se observa que los animales que consumieron lino (Lote L) mostraron resultados similares a los observados en el lote control ($P < 0,05$), al igual que observaron anteriormente otros autores como Bas et al. (2007). Sin embargo, la nota del estado de engrasamiento (EE) fue mayor en el lote lino.

Por otro lado, los corderos que ingirieron lino y algas (Lote LA) presentaron una menor velocidad de crecimiento ($P<0,001$). La ingestión diaria de pienso fue más baja en los corderos de este lote (0,78 g/d vs. 1,02 y 1,03 kg/d en los lotes C y L, respectivamente), por lo que la duración del cebo (y, por tanto, la edad de sacrificio) de los corderos del lote LA fue superior a la de los otros dos lotes ($P<0,05$). El menor crecimiento de estos corderos estaría relacionado con la menor ingestión de pienso por la menor palatabilidad del mismo por su contenido en microalgas, ya que esta materia prima confiere un olor y un sabor menos apetecible como ya indicaron Franklin et al. (1999). En los valores relacionados con la canal, se observa que los valores de peso canal caliente (PCC) fueron inferiores en el lote que contenía lino y algas ($P<0,05$). En cuanto al engrasamiento de las canales, los corderos del lote LA, al igual que se observó en el lote L, presentaron una nota de EE mayor que la de los corderos del lote C ($P<0,05$). que podría estar relacionada con el mayor contenido lipídico del pienso que consumieron los corderos de los L y LA.

En definitiva, podría concluirse que la utilización durante el cebo de corderos de dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados basadas en la inclusión de semillas de lino extrusionado no modifica los parámetros de crecimiento pero se obtienen canales con mayores notas de engrasamiento. Sin embargo, la inclusión de microalgas en el pienso, además del lino, empeora el crecimiento de los animales, posiblemente debido a la menor ingestión por el efecto negativo de la inclusión de microalgas en la palatabilidad del mismo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bas, P., Berthelot, V., Pottier, E., and Normand J. 2007. Meat Sci. 77, 678 – 688.
- Colomer F, Delfa R, Sierra I. 1988.. Cuadernos INIA 17, 19-41
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., and Wood, J.D. 2000. Meat Sci. 55, 149 – 159.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G and Wood, J.D. 2005. Meat Sci. 69, 233– 242
- Esner, M. 2001. In J.B. Rossell (Ed.) Oils and fats, Vol 2., 77-122 Leatherhead. United Kingdom
- Franklin, S.T., Martin, K.R., Baer, R.J., Schingor, D. J., and Hippen, A. R. 1999. J. Nutr. 129, 2048 – 2052.
- Mendizabal, J.A., Purroy, A., Indurain, G. e Insausti, K. 2005. Monografías INIA 3, 251– 256.
- Papadopoulos, G., Goulas, G., Apostolaki, E., and Abril, R. 2002. J. Dairy Res. 69, 357- 365.

Agradecimientos

El presente trabajo forma parte de un Proyecto de Investigación financiado por el Gobierno de Navarra (GN 13688).

Tabla 1. Composición en materias primas y composición química de los diferentes piensos utilizados durante el cebo de los corderos (Control: pienso comercial; Lino: enriquecido con semilla de lino; Lino+Algas: enriquecido con Lino y Algas).

	Control	Lino	Lino + Algas
<i>Composición Materias Primas</i>			
Cebada (%)	74,0	64,2	65,8
Soja (%)	22,4	16,7	19,1
Lino (%)	--	10	5
Microalgas (%)	--	--	2
<i>Composición Química</i>			
EM (Mcal/kg)	2,7	2,7	2,8
PB (%)	16,8	16,6	16,5
EE (%)	2,7	6,1	6,7
FB (%)	4,4	4,6	4,3
Cenizas (%)	5,2	5,5	5,8

Tabla 2. Características de crecimiento y de la canal de los corderos en función del tipo de concentrado ingerido (Control: pienso comercial; Lino: enriquecido con semilla de lino; Lino+Algas: enriquecido con Lino y Algas).

	Control	Lino	Lino+Algas	E.E. ¹	P
Peso inicial (kg)	16,2	16,3	16,4	0,32	ns
Edad inicial (kg)	53	56	57	2,2	ns
Peso sacrificio (kg)	27,1 ^a	27,3 ^a	25,9 ^b	0,28	**
Edad sacrificio (d)	81 ^a	86 ^a	99 ^b	2,5	***
GMD (g/d)	398 ^a	366 ^a	237 ^b	15,7	***
Cons. Pienso ² (kg/cord)	28,6	30,9	32,9		
I.C. pienso ² (kg/kg)	2,62	2,81	3,46		
PCC (kg)	12,0 ^a	12,3 ^a	11,4 ^b	0,16	**
PCF (kg)	11,7	12,0 ^a	11,2 ^b	0,19	*
RC (%)	43,0	44,0	43,2	0,49	ns
EC (1-15)	5	6	6	0,45	ns
EE (1-15)	5 ^b	7 ^a	6 ^a	0,44	*
EGD (mm)	2,6	3,3	2,5	0,32	ns
Grasa PR (g)	163	196	201	14,9	ns
Composición 10 ^a Costilla					
Area L.D.(cm ²)	14,9	15,0	14,7	0,45	ns
Grasa SC (%)	14,1	19,1	16,5	1,36	ns
Grasa InterM(%)	8,4	7,9	10,8	0,83	ns
Grasa IntraM (%)	3,1	2,4	3,6	0,33	ns

Ns: no significativo; * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

Comparación entre lotes: letras diferentes $P < 0,05$; letras iguales o ausencia de letras $P > 0,05$.

¹E.E., Error estándar

²Estimado por lote

INCREASING POLYUNSATURATED AND OMEGA-3 FATTY ACIDS OF RAZA NAVARRA LAMB MEAT USING LINSEED AND MARINE MICROALGAE. I GROWTH, CARCASS AND FATTENING PARAMETERS

ABSTRACT.

The aim of this work was to study the effect of feeding flax seed and microalgae on Navarra breed lamb growth. Thirty three male lambs were assigned to three groups: *Control* (C), fed on a barley and soya concentrate, *Linseed* (L) and *Linseed-algae* (LA), receiving the same concentrate feed but including a 10 % of flax seed and a 5 % of flax seed and 2 % of microalgae, respectively. Lambs were studied from 16 to 27 kg Live Weight. Growth, carcass and fattening parameters were studied. Results showed that lambs fed on flax diet had similar growth and carcass parameters than control group but fattening score was higher. However, lamb growth parameters of lambs fed on linseed and microalgae were lower, likely due to its worst palatability.

Keywords: fatty acids, linseed, microalgae, lambs

ENRIQUECIMIENTO EN ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS Y OMEGA-3 DE LA CARNE DE CORDERO DE RAZA NAVARRA MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE SEMILLA DE LINO Y ALGAS MARINAS. II CALIDAD DE LA CARNE:

COMPOSICIÓN EN ÁCIDOS GRASOS

Insausti¹, K., Zudaire¹, G., Sarriés¹, M.V., Beriain¹, M.J., Gómez¹, I., Arana¹, A., Mendizabal¹, J.A., y Purroy¹, A.

¹ETSIA. Universidad Pública de Navarra. Campus de Arrosadia, 31006 Pamplona. E-mail: kizkitza.insausti@unavarra.es

INTRODUCCIÓN

La composición en ácidos grasos de la carne de los rumiantes está influenciada entre otros factores por la dieta y el genotipo (Wood et al., 1999). Este aspecto adquiere especial importancia debido a que recientemente ha aumentado el interés hacia la calidad nutricional de la carne, lo que ha propiciado la investigación relacionada con su composición en ácidos grasos. Además, hay que tener en cuenta que la composición de la grasa contribuye a la calidad y palatabilidad de la carne.

Existen algunos estudios en los que se han alimentado corderos con lino y aceites de pescado para aumentar la cantidad de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n3 con el objeto de obtener una carne más saludable (Elmore et al., 2000). Sin embargo, los cambios en la composición en ácidos grasos pueden afectar también al flavor de la carne y por tanto, a su calidad sensorial.

El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la inclusión de dos fuentes alimenticias ricas en ácidos grasos de la serie n3 y con diferente contenido en EPA y DHA, lino y microalgas marinas, sobre el crecimiento de los corderos y en la calidad de la canal y de la carne. En esta segunda comunicación, se estudia la calidad de la carne en relación a su perfil de ácidos grasos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han utilizado 33 corderos machos de raza Navarra nacidos y cebados en la granja experimental del ITG Ganadero localizado en Valtierra (Navarra). Los corderos fueron distribuidos durante el cebo en tres lotes: Lote *Control* (C) (pienso concentrado convencional; n= 11); Lote *Lino* (L) (pienso enriquecido con un 10% de semilla de lino; n= 11); Lote *Lino + Algas* (LA) (pienso enriquecido con un 5% de semilla de lino y un 2% de microalgas; n= 11). En la Tabla 1 se muestra la composición en materias primas y la composición en ácidos grasos de los 3 piensos estudiados.

Cuando los animales alcanzaron un peso medio de 27 kg se sacrificaron en el matadero "La Protectora" de Pamplona. Tras el despiece de la canal, a las 24 h post-sacrificio, se extrajo el músculo *longissimus dorsi* del que se congeló una parte a -20°C hasta el análisis de la composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular. El método utilizado para la extracción y metilación de la grasa fue el descrito por Aldai *et al.* (2005). Los ácidos grasos fueron expresados como porcentaje del total de ácidos grasos detectados (g/100 g ácidos grasos).

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante análisis de varianza considerando la dieta como factor fijo (SPSS 16.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 2 muestra el efecto de la dieta en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la carne de cordero. Así, los efectos más importantes de la incorporación de lino en el alimento (lotes L y LA) se tradujeron en un aumento de la cantidad de ácido linoléico (ALA, C18:3n3) y del C18:1t11 ($p < 0,001$). Por otro lado, el contenido en ácidos grasos n3 aumentó significativamente ($p < 0,001$), mientras que el ratio n6/n3 fue inferior respecto al lote control ($p < 0,001$).

El hecho de incluir algas en la dieta, junto con una menor cantidad de lino (lote LA), dio lugar a carnes con mayor proporción de EPA, DPA y DHA que la dieta control (Lote C), al igual que lo descrito por Elmore et al. (2005). Sin embargo, también resultó ser una carne con una grasa más saturada quizá por el mayor contenido en C16:0. Los resultados mencionados

fueron corroborados por el estudio de componentes principales en el que se obtuvieron 4 factores. Los dos primeros explicaban el 64% de la variabilidad total y relacionaron positivamente los ácidos grasos EPA y DHA con el sumatorio de ácidos grasos saturados y con el ácido palmítico (C16:0).

Estos resultados podrían explicar en parte que las notas sensoriales que más influyeron en la aceptabilidad sensorial de la carne de estos mismos corderos (Insausti et al., 2010) fueron el olor y el sabor, obteniendo los valores sensoriales más bajos la carne del Lote LA. Además, en este lote con mayor contenido en EPA, DPA y DHA se detectaron olores extraños que fueron identificados por los catadores como "pescado", que podría estar relacionado con la menor valoración global, y que coincide con los resultados obtenidos por Elmore et al. (2005).

En conclusión, la incorporación de algas en la dieta (lote LA) aumentó la proporción de EPA y DHA en la grasa lo que podría justificar el efecto negativo en la calidad sensorial de la carne. Por el contrario, la inclusión de lino en la dieta (lote L) mejoró los valores de ácidos grasos n3 de la carne pero sin afectar a la calidad organoléptica de la misma.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldai, N., Osoro, K., Murray, B.E., Nájera, A.I., Troy, D.J. 2005. *J Sci Food and Agric.* 85: 1073-1083.
- Elmore, J.S., Mottram, D.S., Enser, M., Wood, J.D. 2000. *Meat Sci.* 55: 149-159.
- Elmore, J.S., Cooper, S.L., Enser, M., Mottram, D.S., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G., Wood, J.D. 2005. *Meat Sci.* 69: 233-242.
- Insausti, K., Beriain, M.J., Sarries, M.V., Arana, A., Mendizabal, J.A., Purroy, A. 2010. *Eurosense.* 5-8 September 2010. Vitoria-Gasteiz.
- Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Richardson, R.I., Sheard, P.R. 1999. *Proc Nutr Soc.* 58: 363-370.

Agradecimientos

El presente trabajo forma parte de un Proyecto de Investigación financiado por el Gobierno de Navarra (GN 13688).

Tabla 1. Composición en materias primas y ácidos grasos de los diferentes piensos estudiados.

	Control	Lino	Lino + Algas	
<i>Composición Materias Primas</i>				
Cebada (%)	74,0	64,2	65,8	
Soja (%)	22,4	16,7	19,1	
Lino (%)	--	10	5	
Microalgas (%)	--	--	2	
<i>Composición en ácidos grasos (%)</i>				
C16:0	23,95	13,22	19,89	Sig. ***
C16:1c9	0,17	0,11	0,15	**
C18:0	3,29	3,20	2,60	**
C18:1t11	0,09	0,07	0,09	ns
C18:1c9	12,13	15,81	11,13	ns
C18:2n6 (LA)	48,54	30,49	28,33	***
C18:3n35 (ALA)	4,43	33,49	22,61	***
9c11tCLA	0,24	0,25	0,08	*
C20:5n3 (EPA)	0,08	0,04	0,34	**
C22:6n3 (DHA)	0,01	0,01	6,61	***

ns : no significativo; *p<0,05 ; **p<0,01 ; ***p<0,001

Tabla 2. Efecto de la dieta en la composición en ácidos grasos de la grasa intramuscular (músculo longissimus) (%) en corderos de raza Navarra (media y error estándar¹).

	Control	Lino	Lino+Algas	EE ¹	Sig.
C16:0	27,31 a	26,77 a	31,48 b	1,68	***
C16:1c9	1,64 a	1,42 b	1,28 b	0,27	***
C18:0	13,67 a	13,53 a	12,51 b	1,05	**
C18:1t11	2,88 a	7,04 b	7,93 b	2,74	***
C18:1c9	28,92 a	24,91 b	21,28 c	4,08	***
C18:2n6c9c12 (LA)	7,77	6,78	5,97	2,54	ns
C18:3n3c9,c12,c15 (ALA)	0,40 a	1,84 b	0,89 c	0,53	***
9c11tCLA	0,12	0,11	0,16	0,15	ns
C20:4n6 (AA)	2,71 ab	2,16 a	3,35 b	0,89	***
C20:5n3 (EPA)	0,19 a	0,74 b	1,01 b	0,60	***
C22:5n3 (DPA)	0,23 a	0,31 b	0,32 b	0,09	**
C22:6n3 (DHA)	0,05 a	0,08 a	0,99 b	0,10	***
AGS	48,89 a	47,48 a	50,74 b	2,39	***
AGM	37,14 a	36,34 a	33,77 b	3,37	**
AGP	12,19	14,21	13,85	2,87	ns
AGP/AGS	0,25 a	0,30 b	0,27 ab	0,06	*
n6	10,96	9,75	10,86	3,29	ns
n3	1,04 a	4,32 b	2,77 b	2,19	***
n6/n3	10,46 a	3,76 b	4,44 b	2,80	***
CLA	0,26	0,30	0,29	0,15	ns

ns : no significativo; *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001

Comparación entre lotes: Letras diferentes *p<0,05, Letras iguales o ausencia de letras p>0,05

INCREASING POLIUNSATURATED AND OMEGA 3 FATTY ACIDS ON RAZA NAVARRA LAMB MEAT USING LINSEED AND MICROALGAE. II MEAT QUALITY: FATTY ACID COMPOSITION

ABSTRACT. The aim of this research was to study the fatty acid profile of meat from Navarra breed lambs fed linseed and microalgae. Thirty three male lambs were assigned to three groups: *Control (C)*, fed on a barley and soya concentrate, *Linseed (L)* and *Linseed-Algae (LA)*, receiving the same concentrate feed but including a 10 % linseed and a 5 % of linseed and 5 % of microalgae, respectively. Lambs were studied from 16 to 27 kg live weight. Intramuscular fatty acid composition from the *longissimus dorsi* muscle was studied. Results showed that the inclusion of linseed and algae in the diet of lambs improves the nutritional quality of lamb meat. Anyway, attention has to paid to the sensory quality of meat when modifying fatty acid composition.

Keywords: fatty acids, linseed, microalgae, lambs.

EFFECTOS DE LA INCORPORACIÓN DE PULPA DE TOMATE Y VITAMINA E EN LAS DIETAS DE CEBO DE CORDEROS SOBRE VARIABLES ZOOTÉCNICAS Y CALIDAD DE LA CANAL Y CARNE

Cáceres-Nebreda, A*, Muñoz-Regalado, B. y López-Parra, M^a. M.
Servicio de Coordinación y Administración del SECTI. Centro de Investigación "Finca La Orden – Valdesequera". 06187 Guadajira, Badajoz.
*angelina.caceres@juntaextremadura.net

INTRODUCCIÓN

La pulpa de tomate, como muchos subproductos agrarios, habitualmente es desechada por dificultades en su almacenamiento debido a su alta humedad, a pesar de su valor en la alimentación animal, lo que permitiría su reutilización mediante su incorporación a un proceso de transformación en carne de calidad, de forma rentable y sostenida.

El efecto antioxidante y beneficioso de la vitamina E sobre la carne de cerdo es bien conocido, y con menos amplitud, también se ha estudiado la repercusión en carne bovina. En corderos los estudios son escasos, a lo que hay que añadir que su corto ciclo de cebo puede limitar los efectos beneficiosos de la vitamina E sobre la carne.

La importancia de los antioxidantes en la carne fresca de cordero está relacionada con aspectos comerciales, vinculados al color como parámetro más importante de percepción y ligado éste a la oxidación de lípidos y pigmentos (Buckley y col., 1995)

En el presente trabajo se plantea la comparación de distintos tipos de dietas con diferentes proporciones de vitamina E y pulpa seca de tomate, en los piensos de cebo de corderos, en un núcleo granulado y, grano entero el resto de componentes bromatológicos sin utilización de paja de cereal, comprobando su efecto en la calidad de su canal y carne fresca.

MATERIAL Y MÉTODOS

La producción de los corderos se llevó a cabo en la finca La Orden (Badajoz), siendo alimentados con diferentes dietas, diferenciadas por la cantidad de vitamina E (ppm) y pulpa de tomate aportada (%PT): Dieta 1: E50-PT0; Dieta 2: E500-PT0; Dieta 3: E50-PT10 y Dieta 4: E500-PT10. El ensayo se realizó en dos años. En el primero, el número de corderos estudiados fue de 100, distribuidos en 8 corrales con su consiguiente repetición, en función de la dieta y el sexo, con 5 corderos cada uno, salvo en la dieta 2 en los que el número de animales fue de 10. El segundo año se estudiaron un total de 80 corderos a razón de 5 corderos por corral. La duración media del cebo en que permanecieron con la dieta experimental, fue de 33,5 días. El peso medio de sacrificio fue de 25.6 Kg. de peso vivo.

En el matadero se pesaron las canales en caliente y tras 24 horas a -4°C , en frío, y se clasificaron en función de la conformación y engrasamiento (SEUROP). Se midió el pH y color ($L^*a^*b^*$) mediante colorímetro (Minolta CR-200), a nivel del músculo recto abdominal. Tras realizar el despiece se obtuvo la pierna, sobre la que se estudió la calidad de la carne. En el laboratorio se determinó: pigmentos hemínicos (Hornsey, 1956), pH, capacidad de retención de agua (CRA) (Grau y Hamm, 1953), pérdidas por cocinado, contenido en materia seca (ISO R-1442), cenizas (ISO R-936), proteínas (ISO R-937), TBA (Rosmini y col.1996) y Hexanal (SPME-Gc-MS). El segundo año se realizó la evaluación sensorial. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS 15.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al estudiar los parámetros de producción se encontraron diferencias significativas en algunos de ellos según la dieta recibida o el sexo. En función de la dieta, sólo en el primer año encontramos diferencias en las variables de Consumo Medio Diario (CMD) y Ganancia Media Diaria (GMD). En cuanto al sexo, todas las variables mostraron diferencias tanto en el primer como en el segundo año (*Tabla 1*).

Las dietas recibidas por los corderos no afectan a las variables determinadas sobre las canales a nivel de matadero (*Tabla 2*).

El sexo por su parte, si mostró influencia en algunos parámetros en el primer año, encontrando que las canales de los machos fueron más pesadas y menos engrasadas que la de las hembras y con valores de luminosidad (L^*) superiores, salvo en la Dieta 1, y con menor índice de amarillo (b^*). En el segundo año sólo se encontraron diferencias en cuanto al peso de la canal.

Tabla 1. Variables zootécnicas en función de la dieta y el sexo (Año 1 y 2)

		DIETA 1				DIETA 2				DIETA 3				DIETA 4				P
		M		H		M		H		M		H		M		H		
		Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	
Primer año	PP	9,00	2,70	7,60	2,40	10,40	2,80	8,50	1,90	8,10	1,70	8,00	1,50	9,30	1,20	7,80	2,50	Dt ns
		8,30 ± 2,60		9,50 ± 2,50		8,00 ± 1,60		8,60 ± 2,10		Sx***								
	CMD	1,03	0,10	1,03	0,10	0,98	0,10	1,10	0,10	0,86	0,06	0,97	0,20	1,00	0,14	0,95	0,05	Dt***
		1,03 ± 0,10		1,04 ± 0,70		0,92 ± 0,07		0,98 ± 0,10		Sx**								
	GMD	0,31	0,04	0,27	0,04	0,33	0,02	0,25	0,05	0,31	0,05	0,25	0,04	0,29	0,04	0,24	0,04	Dt***
		0,27 ± 0,07		0,30 ± 0,07		0,24 ± 0,05		0,25 ± 0,06		Sx***								
IC	3,72	1,64	4,42	0,94	3,08	0,77	4,38	0,92	3,64	1,14	4,45	0,79	3,62	0,83	4,65	1,32	Dt ns	
	4,07 ± 1,35		3,73 ± 1,07		4,05 ± 1,04		4,14 ± 1,20		Sx***									

PP: peso puesto durante el periodo de cebo (Kg.), CMD: consumo medio diario (Kg./día), GMD: ganancia media diaria (Kg./animal/día), IC: índice de conversión (%), Dt: dieta, Sx: sexo, P: nivel de significación.

Tabla 2. Variables determinadas en matadero en función de la dieta y sexo (Año 1 y 2).

		DIETA 1				DIETA 2				DIETA 3				DIETA 4				P
		M		H		M		H		M		H		M		H		
		Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	Med	sd	
Primer año	PCC	12,00	1,12	10,91	1,39	11,79	1,43	10,95	1,08	11,09	1,34	10,71	0,87	11,92	1,07	11,17	1,59	Dt ns
		11,45 ± 1,35		11,37 ± 1,32		10,90 ± 1,11		11,54 ± 1,37		Sx***								
	ENG	7,10	0,87	7,10	1,19	7,35	1,22	7,55	1,50	7,30	0,94	7,70	1,33	7,30	1,15	8,30	1,33	Dt ns
		7,10 ± 1,02		7,45 ± 1,35		7,50 ± 1,14		7,80 ± 1,32		Sx*								
	L*	44,16	4,26	52,12	3,75	45,27	3,57	42,76	3,25	43,05	3,13	42,28	2,06	47,00	3,39	43,66	4,25	Dt ns
		43,14 ± 4,04		44,02 ± 3,60		42,66 ± 2,61		45,33 ± 4,12		Sx*								
b*	2,20	1,33	2,45	1,80	1,34	2,04	3,01	1,39	2,28	2,22	2,38	0,90	0,94	2,26	1,84	2,05	Dt ns	
	2,31 ± 1,55		2,17 ± 1,92		2,33 ± 1,67		1,39 ± 2,15		Sx*									

PCC: peso canal caliente (Kg.), ENG: engrasamiento; L*: luminosidad, b*: índice de amarillo, Dt: dieta, Sx: sexo, P: nivel de significación

En la evaluación de la calidad tecnológica de la carne fresca no se encontraron diferencias significativas, salvo en la fuerza de corte de las chuletas en el 2º año, mostrándose las

dietas con ausencia de PT más tiernas que el resto (Tabla 3). Pese a no ser significativo, la tendencia es que las hembras proporcionaron carnes más blandas que los machos.

Tabla 3. Fuerza de corte determinada en laboratorio en función de la dieta (Año 2).

	DIETA 1		DIETA 2		DIETA 3		DIETA 4		P
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Fuerza corte (N/cm)	41,35 ab	14	36,99 a	13	50,38 b	20	50,74 b	15	*

El análisis sensorial de las piernas mostró diferencias diversas según la dieta (Tabla 4). En la dureza, las dietas 2 y 3 se diferencian de los valores intermedios mostrados en el resto. Igualmente la pastosidad en la dieta 2 fue significativamente inferior al resto. En cuanto a la intensidad de flavor, nuevamente es la dieta 2 la que muestra diferencias, siendo ahora la que obtuvo los valores más altos. Se podría indicar que la calidad de la dieta 2 sería superior al resto.

Tabla 4. Variables sensoriales en función de la dieta (Año 2).

	DIETA 1		DIETA 2		DIETA 3		DIETA 4		P
	Media	SD	Media	SD	Media	SD	Media	SD	
Dureza	4.05 ab	0.71	3.44 a	0.55	4.85 b	0.77	4.15 ab	0.58	*
Pastosidad	4.47 ab	1.06	3.08 a	0.70	3.60 ab	1.49	4.86 b	0.43	*
Intensidad de flavor	3.39 a	0.77	4.88 b	0.49	3.96 ab	1.08	3.98 ab	0.87	*
Persistencia	4.40	0.82	4.78	0.54	4.65	0.60	4.03	0.68	ns

El posible efecto de la adición de antioxidantes sobre la susceptibilidad oxidativa no se ha puesto de manifiesto en los resultados obtenidos en el análisis de TBA y Hexanal (tabla 5) en la carne en fresco. Habría que estudiar tal efecto sobre carnes envasadas en atmósferas modificadas almacenadas a lo largo del tiempo.

Tabla 5. Resultados de TBA y de Hexanal en función de la dieta (Año 2).

	DIETA 1	DIETA 2	DIETA 3	DIETA 4	P
	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	Media ± SD	
TBA (mg MDA/Kg.)	0.24 ± 0.08	0.34 ± 0.18	0.23 ± 0.10	0.22 ± 0.15	ns
Hexanal (U.A.A.)	(1.5±0.5) × 10 ⁷	(1.2±0.3) × 10 ⁷	(1.5±0.6) × 10 ⁷	(1.8±0.5) × 10 ⁷	ns

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es parte de un proyecto financiado por el III Plan Regional de Investigación (PDT08B039). Agradecer al SIPA (UNEX) su colaboración en los estudios realizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Buckley, D.J., Morrissey, P.A., Gray, J.I. (1995). J. Anim. Sci. 73:3122. • Grau, R., Hamm, R. (1957). • Hornsey, H.C. 1956. J. Sci. Food Agric. 7, 534. • ISO R- 936. • ISO R- 937 • ISO R-1442. • Mitt. Ueber die Bestimmung der Wasserbindung des muskels. Z. Lebensm.-Unters.-Forc. 105:446. • SPSS for Windows Spanish (200) 15.0.

EFFECT OF INCORPORATION OF TOMATO PULP AND VITAMIN E IN LAMBS DIETS ON ZOOTECNICAL PARAMETERS, CARCASSES AND MEAT QUALITY.

ABSTRACT: The aim of this work is to study the effect of different lamb fattening diets based on tomato pulp dry and vitamin E, on carcass and meat quality. We conclude that incorporating of tomato pulp it is not interesting from the zootechnical standpoint. There is no effect on carcass and sensory quality is reduced.

Keywords: lamb, vitamin E, tomato pulp, antioxidant

LA INCLUSIÓN DE ÁCIDO CARNÓSIDO EN LA DIETA DE CORDEROS DE CEBO RETRASA LA DECOLORACIÓN DE LA CARNE.

Morán, L.^{1*}, Rodríguez-Calleja, J. M.², Bodas, R.¹, Prieto, N.¹, Blanco, C.¹ Giráldez, F.J. y Andrés, S.¹

¹Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). Finca Marzanas. 24346 Grulleros, León.

²Dpto. Higiene y Tecnología de los Alimentos. Universidad de León. 24071 León.

*Correo e.: laramoran@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

La vida útil de la carne se reduce como consecuencia de la contaminación microbiana y la peroxidación lipídica, por lo que el desarrollo de estrategias que retrasen estos procesos es importante para las industrias cárnicas. En este sentido, incluir compuestos naturales en las dietas de los animales podría evitar la adición de aditivos a la carne. El romero (*Rosmarinus officinalis* L.) posee una gran riqueza en diterpenos fenólicos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes que han demostrado ser eficaces tanto cuando se añaden directamente al alimento como aditivos (McBride et al., 2007), como cuando se incluyen en la alimentación del animal (Nieto et al., 2010). El principal compuesto fenólico que aparece retenido en la carne tras el consumo de romero es el ácido carnósido (Moñino et al., 2008), por lo que puede establecerse la hipótesis de que este compuesto es el principal responsable del efecto antimicrobiano y antioxidante en el producto final. No obstante, la concentración de ácido carnósido en el romero varía en función de la fase de desarrollo y de las condiciones climáticas en que se ha desarrollado la planta (Munné-Bosch et al., 2001). Por este motivo, la utilización de extractos de romero con una concentración conocida de ácido carnósido puede ayudar a determinar cuál es la dosis de este compuesto que ha de ser incluida en la alimentación de los animales para lograr un efecto beneficioso sobre la calidad de la carne.

El objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la inclusión de ácido carnósido a dos dosis distintas en la alimentación de corderos, en comparación con la vitamina E, sobre la vida útil de la carne (estabilidad del color y propiedades antimicrobianas).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 32 corderos de raza Merina (peso vivo medio (PV) $15,2 \pm 0,75$ kg) alojados individualmente y alimentados con un pienso comercial (35 g kg^{-1} PV día⁻¹) y paja de cebada (200 g día^{-1}). Dichos corderos fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos experimentales: un grupo control (CONTROL) que consumía un pienso formulado sin vitamina E ni selenio (50% cebada, 20% soja, 15% maíz, 8% trigo, 4% melaza y 3% suplemento mineral); otro grupo (VITE006) que recibió un aporte extra de vitamina E en el pienso ($0,6 \text{ g vitamina E kg}^{-1}$ de concentrado) y otros dos grupos que fueron suplementados con ácido carnósido. Para comparar el efecto de la vitamina E con el del ácido carnósido el tercer grupo recibió la misma dosis de ácido carnósido ($0,6 \text{ g carnósido kg}^{-1}$ de concentrado, CARN006). El último grupo recibió una dosis doble de ácido carnósido ($1,2 \text{ g ácido carnósido kg}^{-1}$ de concentrado, CARN012) para clarificar si existe un efecto dosis-dependiente de este compuesto.

El sacrificio de los animales tuvo lugar en cuatro días distintos, en cada uno de los cuales se sacrificaron 2 animales de cada grupo seleccionados atendiendo a su proximidad al peso al sacrificio (25 kg PV). Tras 24 h de oreo de la canal se extrajeron los músculos *gluteus medius* (GM) y *longissimus thoracis* (LT), que se cortaron en filetes de 2,5 cm de grosor y se envasaron en atmósfera modificada (35% CO₂, 35% O₂ and 30% N₂) con un ratio gas:carne cercano a 25:1. Todas las bandejas se mantuvieron refrigeradas simulando condiciones comerciales (12 h diarias de iluminación a $3 \pm 1^\circ\text{C}$). La carne almacenada se utilizó para medir los parámetros de color y realizar los análisis microbiológicos pertinentes.

El músculo GM se utilizó para medir los parámetros de color a los 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Para ello, se utilizó un colorímetro Minolta® CM-2002 (Konica-Minolta Sensing, Inc., Alemania) con el que se obtuvieron las coordenadas de color L* (luminosidad), a* (índice de rojo) y b* (índice de amarillo). Estos valores se utilizaron para

calcular los siguientes parámetros: hue (h^*), que representa el tono ($\arctang(b^*/a^*)$), y chroma (C^*), que se relaciona con la intensidad del color ($\sqrt{a^{*2}+b^{*2}}$).

Los análisis microbiológicos se realizaron los días 0, 7 y 14 de almacenamiento utilizando el músculo LT. Para ello se procesaron con un homogeneizador (Stomacher 400, AJ Seward, Reino Unido) 25 g de carne en agua de peptona (1:5). El extracto obtenido se diluyó (1:10) y se realizaron siembras para la determinación de bacterias totales viables (BTV) a 4,5°C, *Pseudomonas spp.*, bacterias acidolácticas (BAL) y *Enterobacteriaceae* (EC) según técnicas previamente descritas (Rodríguez-Calleja et al., 2005). Los datos de cada día fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Inst. Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El músculo GM se utilizó para estudiar la evolución del color a lo largo del periodo de refrigeración debido a que ha sido descrito como un músculo que posee una estabilidad media para esta cualidad (McKenna et al., 2005). Hay que reseñar que en este músculo no se observaron diferencias significativas en los valores de L^* y de C^* de los corderos correspondientes a los distintos grupos experimentales (Tabla 1). Sin embargo, las muestras del grupo VITE006 mostraron valores más bajos de h^* tras 14 días de almacenamiento que las de los grupos CONTROL y CARN006, mientras que la carne del grupo CARN012 mostró valores intermedios ($P<0,05$), lo que indicaría una mayor intensidad del color a largo plazo en la carne de los grupos VITE006 y CARN012. Este efecto podría deberse a que la acumulación de los antioxidantes en carne redujo la formación de metamioglobina (coloración parda).

Tabla 1. Efecto del ácido carnósico y de la vitamina E sobre la evolución del color de carne de cordero almacenada en atmósfera modificada durante 14 días.

	CONTROL	CARN006	CARN012	VITE006
L^*				
Día 0	41,2±1,94	41,4±0,96	41,7±2,10	40,2±1,57
7	40,9±1,95	41,6±1,38	41,6±1,79	41,7±1,31
14	42,4±1,06	41,7±1,91	40,7±1,97	41,1±1,81
Chroma (C^*)				
Día 0	14,2±1,12	14,7±2,03	13,9±1,31	13,7±1,14
7	15,2±1,17	15,3±0,93	15,1±0,70	14,9±0,79
14	13,8±0,71	14,3±1,01	14,5±1,49	13,9±1,21
Hue (h^*)				
Día 0	44,9±3,70	42,8±3,82	43,4±3,90	41,8±4,25
7	47,0±2,33	47,1±1,71	45,5±2,10	44,9±3,37
14	54,2 ^a ±6,46	53,5 ^a ±6,69	50,4 ^{ab} ±7,48	45,3 ^b ±2,79

Media \pm desviación estándar. ^{a, b} Superíndices distintos en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($P<0,05$) entre tratamientos

Con respecto a la calidad higiénico-sanitaria de la carne, en el presente estudio no se observó un efecto significativo del ácido carnósico añadido a la ración de los corderos de cebo sobre el crecimiento de los microorganismos analizados (*Pseudomonas spp.*, EC, BAL y BTV). Otros autores sí han descrito un descenso en los recuentos de *Pseudomonas spp.* al utilizar extracto de romero directamente sobre la carne (Zhang et al., 2009), lo que sería indicativo de la actividad antimicrobiana de sus componentes sobre esta especie microbiana en concreto. En nuestro caso, estas diferencias pudieron no observarse como consecuencia de la utilización de atmósfera modificada, debido a que este género es especialmente sensible al CO_2 (Jay et al., 2005).

Tabla 2. Efecto del ácido carnósico y de la vitamina E sobre la calidad higiénico-sanitaria de carne de cordero almacenada en atmósfera modificada durante 14 días.

		CONTROL	CARN006	CARN012	VITE006
<i>Pseudomonas</i>	Día 0	2,69±0,905	2,02±1,110	1,54±0,660	1,29±0,681
	7	3,05±1,053	2,97±0,472	2,60±0,521	2,59±0,683
	14	4,40±1,403	2,97±1,417	3,66±0,999	3,64±0,830
EC	Día 0	1,04±0,614	1,18±0,512	1,42±0,688	1,09±0,269
	7	1,35±0,296	1,05±0,287	1,01±0,380	1,21±0,387
	14	2,06±1,030	1,78±0,409	2,10±0,378	2,23±0,440
BVT	Día 0	2,20±1,137	1,97±0,959	1,81±0,845	1,66±0,893
	7	2,54±0,795	2,70±0,477	2,53±0,611	2,17±0,506
	14	3,20±1,797	3,47±1,815	4,03±1,446	3,60±1,123
BAL	Día 0	2,74±1,227	2,54±0,900	1,89±0,410	1,71±0,279
	7	2,74±1,233	2,34±0,707	2,39±0,390	1,97±0,839
	14	2,99±2,202	3,05±1,261	3,27±1,951	2,88±2,212

Media ± desviación estándar. EC: Enterobacteriaceae, BVT: Bacterias viables totales, BAL: Bacterias acidolácticas.

Podemos concluir que el ácido carnósico retrasa la decoloración tras 14 días de almacenamiento de la carne, aunque en menor medida que la vitamina E. Ninguno de los compuestos mostró un efecto significativo sobre los análisis microbiológicos realizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jay, JM, Loessner, MJ, Golden, DA. 2005. *Modern food microbiology* (7th ed.). Springer Science + Business Media
- López-Campos, O, Bodas, R, Prieto, N, Giráldez, FJ, Pérez, V, Andrés, S. 2010. *Animal*, 4, 958–964
- McBride, N, Hogan, SA, Kerry, JP. 2007. *Int J Food Sci Nutr*, 42(10), 1201-1207
- McKenna, DR, Mies, PD, Baird, BE, Pfeiffer, KD, Ellebracht, JW, Savell, JW. 2005. *Meat Sci*, 70, 665-682
- Moñino, I, Martínez, C, Sotomayor, J, Lafuente, A, Jordán, M. 2008. *J Agric Food Chem*, 56, 3363-3367.
- Munné-Bosch, S, Mueller, M, Schwarz, K, Alegre, L. 2001. *J Plant Physiol*, 158, 1431-1437
- Nieto, G, Díaz, P, Bañón, SL, Garrido, MD. 2010. *Meat Sci*, 84, 23-29
- Rodríguez-Calleja, JM, García-López, ML, Santos, JA, Otero, A. 2005. *Meat Sci*, 70, 389-394
- Zhang, H, Kong, B, Xiong, YL, Sun, X. 2009. *Meat Sci*, 81, 686-692.

MEAT DISCOLOURATION IS SLOWED DOWN WHEN CARNOSIC ACID IS INCLUDED IN THE DIET OF FATTENING LAMBS

ABSTRACT. Thirty-two Merino lambs fed barley straw and a concentrate alone (CONTROL group) or enriched with carnosic acid 0.6 g kg⁻¹ dry matter (DM) (CARN006 group) and 1.2 g kg⁻¹ DM (CARN012 group) or vitamin E 0.6 g kg⁻¹ DM (VITE006 group) were used to assess the effect of these antioxidant compounds on meat quality attributes. The animals were slaughtered after being fed for at least 5 weeks with the experimental diets and *longissimus thoracis* and *gluteus medius* muscles were extracted for colour and microbiological analysis, sliced, packed under modified atmosphere conditions and kept at 4 °C for 14 days aging. Long periods of time under storage conditions (14 days) revealed a significant lower discolouration of VITE006 samples (lower h* values) when compared to the CONTROL group, the CARN012 samples showing intermediate values, probably due to the antioxidant properties of the compounds tested. However, microbiological analyses were not significantly affected at the doses administered.

Keywords: microbiological spoilage; colour; meat quality; carnosic acid.

EMPLEO DE ACEITE DE LINAZA EN LA RACIÓN DE OVEJAS CHURRAS: EFECTO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE, EL CRECIMIENTO Y LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL DE LOS LECHAZOS

Gallardo, B.¹, Manca M.G.^{1,2}, Guerra, C.¹, Bodas, R.³, Mantecón, A.R.³ y Manso, T.^{1*}

¹ETS Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. 34004 Palencia.

²Dpto. Science Zootechnique. Università di Sassari, Italy

³ Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE). 24346 Grulleros, León

*e-mail: tmanso@agro.uva.es

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el desarrollo de estrategias de alimentación de rumiantes que permitan mejorar el perfil de ácidos grasos de la leche y de la carne ha generado un gran interés y ha dado lugar a un gran número de publicaciones científicas.

En este sentido, el uso de aceites vegetales en raciones de ovejas se considera una estrategia nutricional efectiva para aumentar en la leche los niveles de algunos ácidos grasos asociados con efectos beneficiosos para la salud humana, como es el caso del ácido linoleico conjugado (CLA) y de los ácidos grasos omega-3 (Bodas et al., 2010; Castro et al., 2009; Toral, 2010). Sin embargo, el uso de aceites altamente insaturados en raciones de rumiantes lecheros debe realizarse con precaución, ya que puede originar alteraciones en la fermentación a nivel ruminal (Jenkins, 1993) y afectar al rendimiento productivo de los animales y a la composición de la leche.

Son escasos los trabajos publicados sobre la utilización de aceites vegetales en raciones de ovejas lecheras durante el inicio de lactación y, sin embargo, presenta un gran interés ya que podría afectar a la producción y a la composición de la leche y, por tanto, al crecimiento y rendimiento de los lechazos producidos.

Teniendo en cuenta las consideraciones anteriores, el objetivo de este trabajo ha sido estudiar el efecto de la adición de aceite de linaza, altamente insaturado y rico en ácido α -linolénico y linoleico, en la ración de ovejas Churras durante el inicio de lactación sobre la producción y la composición de la leche y sobre el crecimiento y las características de la canal de los corderos producidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se utilizaron 24 ovejas adultas de raza Churra, con un peso vivo de $62,2 \pm 1,81$ kg, una condición corporal de 2,75 y una prolificidad de 1,4. Dos días después del parto las ovejas se asignaron, de forma equilibrada según la producción de leche en la lactación anterior, la prolificidad y el peso a dos tratamientos experimentales de acuerdo con la ración que recibieron: control (ración sin aceite añadido) y linaza (ración con un 3% de aceite de linaza añadido). La ración de las ovejas consistió en una ración total mezclada (TMR) (88,93% MS, 27,47% FND, 18% PB, 2,5% GB) compuesta por: alfalfa deshidratada (39,2%), harina de Soja 44 (17,1%), maíz grano (11,8%), avena (10,3%), cebada (7,8%), pulpa remolacha (7,8%), melaza de caña (5%) y corrector vitamínico mineral (Mervigor Ovejas[®]) (1%). Cada oveja, de acuerdo con el tratamiento experimental al que estaba asignada, recibió la ración correspondiente con o sin aceite de linaza repartida en dos comidas y un 10% de paja de cereales.

Los corderos permanecieron con sus madres desde el parto hasta que alcanzaron el peso de sacrificio y se pesaron dos veces por semana. Durante el periodo de lactancia de los corderos las ovejas se ordeñaron una vez al día (por la mañana) y la producción de leche se controló semanalmente. El día de control de la producción de leche, las ovejas se mantuvieron separadas de los corderos, se ordeñaron dos veces (mañana y tarde), y la producción diaria se estimó a partir de la leche obtenida entre los dos ordeños por extrapolación a 24 h. Para asegurar el vaciado completo de la ubre, antes de cada ordeño se las inyectó 3,5 UI de oxitocina (Oxitón[®], Laboratorios Ovejero, España).

Cada día de control se tomaron muestras de leche para su posterior análisis químico. El contenido en proteína, grasa y sólidos totales de la leche se determinó mediante un equipo MilkoScan-4000 analyzer (Foss Electric, Hillerød, Denmark).

Cuando los corderos alcanzaron el peso establecido (aproximadamente 12 kg) fueron sacrificados. La canal obtenida (canal caliente) se refrigeró durante 24 h a 4°C. Sobre la canal fría, se midió el pH, se separó y se pesó la grasa pelvico renal y se determinó el color de la carne y de la grasa subcutánea empleando un colorímetro portátil Minolta CM-2002 (Konica-Minolta Sensing, Japón).

Los datos de producción y composición de leche se analizaron usando un modelo de medidas repetidas en el tiempo (PROC MIXED). Los datos relativos al crecimiento de los corderos y sus canales se analizaron utilizando el modelo lineal general (PROC GLM). Ambos procedimientos pertenecen al paquete estadístico SAS 9.2. (SAS Inst. Inc., Cary, NC).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ovejas pertenecientes a los distintos tratamientos experimentales no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la ingestión, siendo el valor medio de $2,39 \pm 0,047$ kg de materia seca por oveja y día. De igual modo, y tal y como se puede observar en la Tabla 1, la inclusión de un 3% de aceite de linaza en la ración de ovejas Churras durante el inicio de la lactación, no afectó significativamente a la producción y composición de la leche (grasa, proteína y sólidos totales) ($P > 0,05$). Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Gómez-Cortés et al. (2008) que tampoco encontraron diferencias en la producción, ni en la composición de la leche de ovejas al adicionar aceite de soja en sus raciones. Sin embargo, estos resultados contrastan con algunos trabajos llevados a cabo en vacas lecheras, en los que se pone de manifiesto que la inclusión de aceites o grasas provoca un descenso en la producción total de leche y en el contenido en grasa de la misma (Griinari y Bauman, 2006) debido, posiblemente, a la producción de determinados ácidos grasos intermedarios en la bioidrogenación ruminal que inhiben la síntesis de grasa en la glándula mamaria. Nuestros resultados, y aunque resulta importante la fase de lactación considerada, podrían confirmar la posible existencia de diferencias entre las distintas especies de ruminantes en cuanto al efecto de la suplementación con aceites vegetales sobre la síntesis de grasa de la leche.

Tabla 1. Producción y composición de leche

	Tratamiento			Nivel de significación		
	Control	Aceite Linaza	SED	T	S	T × S
Producción de Leche (g/día)	2174	2115	235,3	0,80	0,97	0,94
Composición (%)						
Grasa	5,67	6,57	0,527	0,09	0,69	0,84
Proteína	4,54	4,57	0,100	0,80	0,02	0,46
Sólidos totales	16,39	17,14	0,493	0,14	0,34	0,87

T: efecto del tratamiento; S: efecto de la semana de muestreo; T×S: efecto de la interacción.

En la Tabla 2 se presentan los valores medios relativos al peso, crecimiento y características de la canal de los corderos pertenecientes a los dos tratamientos experimentales. Como se puede observar, la inclusión de aceite de linaza en la ración de ovejas lecheras durante el inicio de la lactación, no afectó de forma significativa a ninguno de los parámetros estudiados ($P > 0,05$).

Teniendo en cuenta que en este trabajo los corderos se alimentaron exclusivamente de la leche de la madre, que no hubo diferencias significativas ni en la producción, ni en la composición de la leche y que en ningún caso la cantidad de leche producida fue limitante para el crecimiento de los corderos, podría explicar la ausencia de diferencias en el peso, crecimiento, rendimiento y características de la canal de los corderos pertenecientes a los distintos tratamientos experimentales. Este trabajo confirma los resultados obtenidos en trabajos previos en los que no se han encontrado diferencias en el crecimiento y características de la canal de los corderos producidos al comparar la suplementación con distintos aceites (Cassals et al., 2006; Manso et al., 2010).

Tabla 2. Crecimiento y características de la canal de los corderos

	Tratamiento			Nivel de significación
	Control	Aceite Linaza	RSD	
Peso al nacimiento (kg)	4,17	4,09	0,689	0,77
Ganancia media diaria (g/día)	304	283	53,9	0,32
Peso vivo al sacrificio (kg)	12,5	12,2	1,65	0,59
Peso canal fría (kg)	6,84	6,37	0,897	0,17
pH	5,80	5,83	0,070	0,33
Rendimiento comercial (%)	54,9	52,4	4,14	0,12
Grasa perirrenal (g)	219	200	83,2	0,54
Color <i>m. longissimus dorsi</i>				
L*	44,3	44,0	2,55	0,75
a*	3,97	4,03	2,037	0,93
b*	8,56	8,44	0,830	0,68
Color grasa subcutánea				
L*	71,6	72,5	2,54	0,31
a*	0,84	0,28	0,819	0,08
b*	10,75	9,31	2,085	0,07

De los resultados obtenidos en este trabajo se desprende que la suplementación con un 3% de aceite de linaza en raciones de ovejas Churras en inicio de lactación, cuando se compara con una ración sin aceite añadido, no produce cambios significativos en la producción y composición de la leche, ni en el crecimiento y características de la canal de los lechazos producidos. Es posible que el efecto de la incorporación de aceite de linaza se manifieste únicamente en diferencias en la composición de la grasa de la leche y de la carne de los lechazos producidos.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León (proyectos VA058A07 y GR158) y realizado dentro de un convenio de Colaboración entre la Diputación de Palencia y la Universidad de Valladolid.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bodas, R., Manso, T., Mantecón, A.R., Juárez, M., de la Fuente, M.A. & Gómez-Cortés, P. 2010. *J. Agr. Food Chem.* 58: 10493-10502
- Castro, T., Manso, T., Jimeno, V., Del Alamo, M. & Mantecón, A. R. 2009. *Small Ruminant Res.* 84: 47-53.
- Casals, R., Caja, G., Pol M.V., Such X., Albanell, E., Gargouri A., & Casellas, J. 2006. *Anim. Feed Sci. Techn.* 131: 312-336.
- Chilliard, Y., A. Ferlay, J. Rouel, & G. Lamberet. 2003. *J. Dairy Sci.* 86: 1751-1770.
- Gómez-Cortés, P., Frutos, P., Mantecón, A. R., Juárez, M., de la Fuente, M. A. & Hervás, G. 2008. *J. Dairy Sci.* 91: 1560-1569.
- Griinari, J.M. & Bauman D.E. 2006. *Ruminant Physiology*: 389-417.
- Jenkins, T.C. 1993. *J. Dairy Sci.*, 76: 3851-3863.
- Manso, T., Bodas, R., Vieira, C., Castro, T., Gallardo, B. & Mantecon, A.R. 2010. XXXV Congreso SEOC, Valladolid.
- Toral, P.G. 2010. Tesis Doctoral. Universidad de León.

LINSEED OIL FOR LACTATING CHURRA EWES: EFFECTS ON MILK PRODUCTION, GROWTH AND CARCASS CHARACTERISTICS OF THEIR SUCKLING LAMBS

ABSTRACT: Twenty four Churra ewes were used to study the effects of supplementing diets with 3% of linseed oil on milk yield and composition and on growth and performance of their suckling lambs. The lambs were fed exclusively by suckling from their respective mothers and slaughtered when they reached 12 kg body weight. No changes were observed in milk yield and composition ($P>0,05$). Growth and carcass characteristics of suckling lambs were not affected ($P>0,05$) by supplementing the ewes with 3% of linseed oil.

Keywords: *linseed oil, lactating ewes, suckling lambs*

INFLUENCIA DE LA ALIMENTACION Y DE LA LACTANCIA SOBRE EL CONTENIDO EN VITAMINA E Y ACIDOS GRASOS DE LA CARNE DE CORDEROS LIGEROS

M. Joy¹, F. Molino¹, C. Gil¹, G. Estopañán¹, J. Álvarez-Rodríguez², M. Blanco³
¹CITA. Av. Montañana, 930. 50059 Zaragoza. ²UdL-LLeida. ³INRA-Theix. Francia.:
mjoy@aragon.es

INTRODUCCIÓN

En Aragón, la mayoría de los corderos son alimentados con leche de la madre hasta los 12-13 kg PV y posteriormente son destetados y cebados con pienso. El proceso de destete provoca un importante cambio de alimentación, que debe ser valorado en función del tipo de dieta que recibe. Los corderos pueden ser alimentados con forraje suplementado con pienso sin perjudicar sus rendimientos (Joy et al., 2008).

La alimentación de los corderos influye en la calidad de la grasa intramuscular y en la estabilidad o vida útil de la carne, que está condicionada por los procesos oxidativos que tienen lugar durante su maduración. Un mayor contenido en ácidos grasos poliinsaturados en el perfil de ácidos grasos de la carne puede favorecer un proceso oxidativo más rápido, reduciendo su vida útil. Por ello, es necesaria la búsqueda de compuestos que permitan alargar la estabilidad de la carne, como es la vitamina E (tocoferol). Esta vitamina es comúnmente usada como aditivo antioxidante en los piensos ya que reduce la oxidación lipídica, las pérdidas por goteo e incrementa la estabilidad del color, lo que puede suponer un incremento de la vida útil de la carne.

La alimentación a base de forraje en corderos incrementa de manera natural el contenido en ácidos grasos omega-3 en la grasa intramuscular (Panea et al., 2011) y el contenido en α -tocoferol (Santé-Lhoutellier et al., 2008). El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de forraje en las dietas de cordero (pastoreo de alfalfa vs. pienso en estabulación) y del destete (lactante hasta sacrificio vs. destete a los 13 kg) sobre el contenido en Vitamina E y el perfil de ácidos grasos en la carne de corderos de raza Rasa Aragonesa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 32 ovejas de parto simple de raza Rasa Aragonesa. Se evaluó el efecto de la inclusión de forraje (pastoreo de alfalfa vs. pienso en estabulación) y de la duración de la lactancia (lactante hasta sacrificio a 23 kg vs. destete a 13 kg PV) en un diseño factorial 2 x 2. Los lotes se formaron al azar, teniendo en cuenta el número de parto, PV y CC de la oveja, y el género y PV del cordero al nacimiento. Dieciséis ovejas con sus crías (machos y hembras) permanecieron estabuladas y recibieron una dieta de una mezcla seca única mientras que las 16 restantes se mantuvieron en una parcela de alfalfa donde pastaban rotacionalmente a una densidad de carga de 21 ovejas más sus crías/ha. Todos los corderos tuvieron siempre acceso a concentrado. Cuando los corderos alcanzaron el PV de 12-13 kg, la mitad de ellos se destetaron y la otra mitad permaneció con sus madres en las mismas condiciones hasta el sacrificio (22-24 kg PV).

La porción del músculo *Longissimus lumborum* comprendida entre la 1ª y 6ª vértebras lumbares se extrajo de la media canal izquierda 24 horas después del sacrificio. Dicha porción se dividió en dos partes, una para la determinación de la vitamina E y otra para el perfil de ácidos grasos. Las muestras fueron envasadas al vacío (-900 mbar), envueltas en papel de aluminio para impedir el contacto con la luz y congeladas a -18 °C hasta el día de su análisis. El análisis de la vitamina E se realizó según el método utilizado por Mestres-Prates et al. (2006). Cada muestra se analizó por duplicado. Para la separación y posterior cuantificación de los diferentes homólogos del tocoferol se utilizó el sistema HPLC (Kontron) con detector de fluorescencia. Se utilizaron patrones de los homólogos del tocoferol: (+)- γ -Tocoferol y (+)- α -Tocoferol 95%, y δ -tocoferol (Sigma-Aldrich). La determinación del perfil de ácidos grasos (AG) se realizó según el método de Rule (1997). Tras la metilación, los AG eran analizados mediante cromatografía de gases (Autosystem XL Agilent Technologies

7890 Net Work GC System, Perkin Elmer, Boston, USA). El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico SAS 9.1. Los contenidos en γ - y α -tocoferol y el perfil de ácidos grasos se analizaron con un análisis de varianza mediante modelos lineales generalizados, donde la inclusión de forraje, el destete, el sexo y sus interacciones fueron los efectos fijos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los corderos que procedían del pastoreo de alfalfa presentaban un contenido en α -tocoferol significativamente superior a aquellos que permanecían en estabulación y sin forraje fresco ($P<0.05$) (Figura 1), lo que concuerda con otros estudios realizados con corderos en pastoreo frente a corderos cebados únicamente con pienso (Santé-Lhoutellier et al., 2008). El forraje fresco tiene concentración elevada de α -tocoferol, que disminuye con el secado del forraje. Por el contrario el contenido en este compuesto en los granos de cereal es despreciable. La fracción de γ -tocoferol se comportó de forma inversa, con un mayor contenido en los animales estabulados frente a los de pastoreo ($P<0.05$). El origen de estas diferencias puede estar ligada a la presencia de soja y colza en la dieta de las ovejas estabuladas, ya que el γ -tocoferol aparece en estos compuestos. Además, el pienso de los corderos constaban como ingredientes aceites vegetales que pudieron contribuir a elevar su nivel en la carne. Los niveles de γ -tocoferol en el forraje son muy inferiores a los de α -tocoferol, por lo que pudo ser indetectable en animales en pastoreo aunque éstos recibieran aporte de pienso (20,4 vs. 33,7 kg de pienso).

El efecto del destete fue menos claro que el de la inclusión de forraje. Los corderos destetados presentaron ligeramente mayor contenido en α -tocoferol que los lactantes ($P=0.06$), mientras que el contenido en γ -tocoferol fue similar en ambos grupos de animales (Figura 1). De hecho, al analizar las medias de los grupos de alimentación, se puede observar que los corderos destetados en pastoreo de alfalfa presentaron un mayor contenido en α -tocoferol que los corderos sin destetar en pastoreo de alfalfa (3,16 vs. 2,59 $\mu\text{g/g}$; $P<0,05$). Sin embargo, en los corderos estabulados, el destete no conllevó un incremento significativo del contenido en α -tocoferol de la carne (0,95 vs. 0,84 $\mu\text{g/g}$; $P>0,05$). El mayor contenido de α -tocoferol en los corderos destetados en pastoreo de alfalfa con respecto a los lactantes podría ser el reflejo del mayor consumo de forraje en los corderos destetados a 13 kg comparados con los que lactaron hasta el sacrificio.

La inclusión de forraje tuvo un efecto significativo en la mayoría de los grupos de ácidos grasos de interés para la salud humana (Figura 1). Los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), poliinsaturados (AGPI) y el ácido linoléico conjugado (CLA), así como la relación ácidos grasos poliinsaturados n-6/n-3 (AGPI n-6/n-3) estuvieron afectados por el pastoreo ($P<0.05$), incrementando el contenido en CLA y AGMI y reduciendo de la relación n-6/n-3 por lo que provocó un perfil en AG más favorables para la salud humana en los corderos que procedían de pastoreo. Resultados similares se han observado al comparar corderos ligeros en pastoreo y corderos alimentados con concentrado (Joy et al., 2008; Panea et al., 2011). Al igual que con el contenido en α -tocoferol y γ -tocoferol, la influencia del destete sobre el contenido de ácidos grasos fue menos notable que la del forraje. El destete tuvo un efecto significativo sobre los AGS ($P<0.01$) y AGMI, CLA, AGPI n-3 y la relación AGPI n-6/n-3 ($P<0.001$). El destete provocó una reducción del AGS, CLA y del AGPI n-3 ($P<0.05$) y un aumento de AGPI y de la relación AGPI n-6/n-3 ($P<0.05$), no afectando al resto de grupos estudiados (Figura1).

Estos resultados están de acuerdo con Scerra et al. (2007) que encontraron que los corderos lactantes en pastoreo tenían mayor contenido en n-6, n-3 y una menor relación n-6/n-3 que los corderos lactantes cuyas madres recibían alimentación en base a heno y concentrado. En cuanto al efecto del destete, Velasco et al., (2004) encontraron que el destete incrementaba el ratio n-6/n-3 en corderos en pastoreo. En el caso de los corderos en intensivo, también el destete incrementó el ratio debido a una mayor ingestión de pienso. El presente trabajo muestra que la inclusión de forraje incrementa el contenido de α -tocoferol y mejora el perfil de ácidos grasos para la salud humana. El destete tuvo un efecto

poco claro en el contenido de la vitamina E, mientras que en el perfil de ácidos grasos provocó una reducción del contenido en CLA y de la relación n-6/n-3

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Joy et al., 2008. Small Rum. Res., 75, 24-35. • Mestres-Prates et al., 2006. Food Chemistry 94, 469-477 •Panea et al., 2011. SJAR, 9 (1) • Rule, D.C., 1997?. Meat Sci. 46. 23-32. • Santé-Lhoutellier et al., 2008 Food Chemistry, 109, 573-579 • Scerra et al., 2007. Meat Sci., 76: 390-394 • Velasco et al., 2004. Meat Sci. 66, 457-465

Agradecimientos: El presente trabajo ha sido desarrollado dentro del proyecto INIA- RTA-2008-0098 e INIA RZP2010-002.

EFFECT OF FEEDING AND LACTATION LENGTH ON VITAMIN E CONTENT AND FATTY ACID COMPOSITION IN LONGISSIMUS DORSI OF LIGHT LAMBS

ABSTRACT. This study determined whether the vitamin E and fatty acid profile content of *L. dorsi* may reflect the feeding strategy in light lambs (22-24 kg). Thirty-two single Rasa Aragonesa lambs were assigned to one of four treatments in a 2 x 2 factorial design. The factors were the inclusion of forage in the diet (alfalfa grazing vs. concentrate-fed indoors) and lactation length (weaning at 13 kg vs. suckling until slaughter). The effect of the inclusion of forage in the diet was significant on α -tocopherol and γ -tocopherol contents and on FA profile while the effect of weaning was less clear. Lambs from grazing treatments presented greater contents of α -tocopherol and MUFA, CLA and lower γ -tocopherol and PUFA n-6/n-3 ($P < 0.05$), regardless of weaning status. Weaning did not have effect on vitamin E contents ($P > 0.05$), whereas increased the PUFA ($P < 0.05$) and decreased SFA and CLA contents ($P < 0.05$). Grazing dams and their lambs affected positively α -tocopherol and γ -tocopherol contents and improved the FA profile of intramuscular fat from a human health of point of view.

Key words: meat, tocopherol, intramuscular fatty acids, forage, weaning.

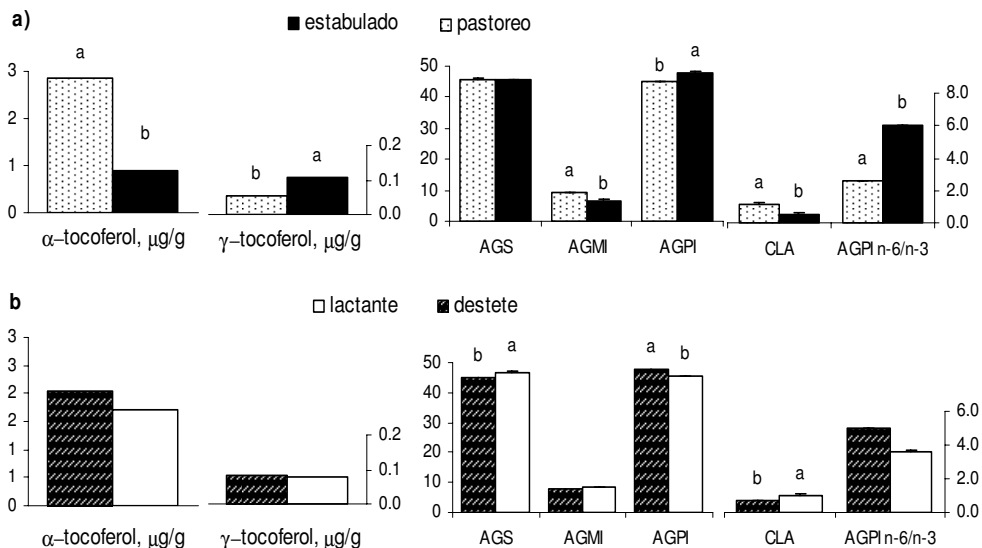


Figura 1.- Efecto de la inclusión de forraje (a) y del destete (b) sobre los contenidos en α -tocopherol y γ -tocopherol ($\mu\text{g/g}$) y los grupos de AG ($\text{g}/100\text{g}$) en el músculo longissimus lumborum de corderos ligeros $a \neq b P < 0.05$.

PARAMETROS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE LA RAZA GASCONNE

Ripoll, G.¹, Albertí, P.¹, Panea, B.¹, Campo, M.M.², Guerrero, A.², Olleta, J.L.², Sañudo, C.², y Santolaria, P.³.

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana, 930, 50059, Zaragoza. gripoll@aragon.es.

² Facultad de Veterinaria de Zaragoza. C/ Miguel Servet, 177, 50.013, Zaragoza

³ Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos. Carretera Cuarte s/n, 22071. Huesca.

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Gasconne, oriunda del sur de Francia, ha heredado una adaptación al medio muy especial dada su evolución racial en las condiciones de las montañas pirenaicas. Es una raza de reciente introducción en España y su censo en 2009 era de más de 5500 cabezas en España (SIMOGAN), y va aumentando paulatinamente. Mientras que el sistema francés se caracteriza por un destete tardío, hasta la fecha existen pocos datos del comportamiento de esta raza en un sistema de destete precoz y cebo con concentrado y paja característico del sistema productivo español. Por ello, el objetivo de este estudio fue caracterizar los parámetros productivos y la calidad de la canal de añajos de la raza Gasconne de origen francés u español, con sus respectivos sistemas de cría, y terminados en ambos casos, con pienso y paja a voluntad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 machos enteros provenientes de dos orígenes diferentes, los cuales fueron distribuidos en dos lotes. Un lote era de procedencia española, destetados antes de los cinco meses (ESP) y el segundo lote era de origen francés, con un destete tradicional (pasteros) alrededor de 7 meses (FRA) y criados en extensivo. Los animales fueron cebados con pienso (UFC/kg, 13.6 %PB, 5.6%GB) y paja *ad libitum*. A lo largo del periodo de cebo se controló el peso y la oferta diaria de pienso por lote, y mensualmente el rehusado de pienso. Se calculó la ingestión media de pienso.

Los lotes se sacrificaron en las instalaciones de MercaZaragoza al llegar a un peso vivo fijado de 510 kg. Las canales se clasificaron según el modelo comunitario de clasificación de canales de bovinos pesados (R. (CE) n^o 1183/2006) por conformación (SEUROP) y engrasamiento transformadas a una escala numérica de 18 y 15 puntos respectivamente, controlándose también el peso de la canal. Se calculó el rendimiento de la canal a partir del peso vivo final y el peso de la canal oreada.

En la media canal izquierda se valoró la morfología de la misma midiéndose el perímetro de la pierna, ancho y profundidad de la pierna, profundidad interna del pecho, ancho de la canal (Albertí et al., 2005a). Posteriormente se realizó el despiece comercial de la media canal izquierda, separando el hueso y la grasa de recorte de las piezas comerciales, que fueron clasificadas por categoría Extra (Solomillo), Primera (Lomo, Babilla, Tapa, Contra, Cadera con Rabillo, Redondo, Culata de contra, Aguja, Espalda y Pez), Segunda (Aleta, Llana, Morcillos y Brazuelo) y Tercera (Falda, Costillar, Pecho, Pescuezo, Diafragma, Filete de rellenar, Trapillos y Recortes) (Albertí et al., 2005b). Se calculó el porcentaje de carne vendible, grasa de recorte y hueso y desechos y se determinó también la relación músculo/hueso. Para todas las variables se realizó un análisis de varianza con el programa SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los dos lotes de animales eran muy distintos, los terneros del lote español habían sido destetados precozmente y ya habían iniciado el periodo de cebo con pienso mientras que los animales franceses acababan de destetarse a la bajada de puerto. Por ello, el peso y edad al inicio de la experiencia fue significativamente distinta (Tabla 1), al igual que la edad al inicio del cebo experimental. La ganancia media diaria durante el cebo fue significativamente distinta entre los dos lotes siendo mayor la del lote de origen francés. Posiblemente una fácil adaptación de los terneros franceses a las condiciones de cebo y

cierto crecimiento compensatorio explican estas diferencias. Piedrafita et al (2003) y Renand et al (2002) encontraron ganancias medias diarias para la misma raza de alrededor de 1,37 kg/d en cebo con silo de maíz y concentrado aunque el peso de sacrificio en estos estudios fue mayor. La ganancia media diaria de 1,7 kg/d es muy elevada y sería similar a la obtenida por Parda de montaña y Pirenaica cebados a pienso (Albertí et al., 2001a). El consumo de pienso fue más elevado en los franceses, no obstante fueron más eficientes ya que su índice de conversión de pienso fue menor.

No se encontraron diferencias significativas en el peso de la canal fría (Tabla 2), y por tanto tampoco en el rendimiento canal. La conformación de ambos lotes fue U- y el engrasamiento varió entre un 2 y un 2+ (P<0,001). No hubo diferencias significativas entre lotes para ninguna de las medidas morfométricas de la canal, que correspondieron a valores medios para pesos similares de razas cárnicas españolas (Albertí et al., 2005a). Renand et al (2002) y Piedrafita et al (2003) encontraron rendimientos de la canal similares en la misma raza alimentada con silo de maíz. Estos valores estarían entre los obtenidos por razas españolas de gran desarrollo muscular y las razas rústicas (Albertí et al., 2001b). Estos autores también encontraron conformaciones similares pero canales mas engrasadas.

Tabla 1. Parámetros productivos de añajos españoles (ESP) y franceses (FRA).

	ESP	FRA	e.e.	Sig.
Peso inicio cebo, kg	420,2	263,4	7,41	***
Edad inicio cebo, días	293,1	242,2	6,53	***
Peso sacrificio, kg	516,4	506,2	10,51	0,501
Edad sacrificio, días	382,1	387,3	6,53	0,580
¹ Días cebo experimental	89	145	-	-
Ganancia media, kg/d	1,08	1,67	0,076	***
¹ Consumo medio de pienso , kg/d	6,9	7,6	-	-
¹ Ingestión pienso, g ms/kg ^{0.75}	62	79	-	-
¹ Índice de conversión pienso, kg/kg	6,4	4,5	-	-

¹ variables controlada por lote (sin análisis de varianza).

***, P<0.001

Tabla 2. Características de la canal de añajos españoles (ESP) y franceses (FRA).

	ESP	FRA	e.e.	Sig.
Peso canal fría, kg	315,9	306,1	7,32	0,359
Rendimiento canal, %	61,16	60,49	0,59	0,436
Conformación, 1-18 (SEUROP)	9,6 (U-)	10,1 (U-)	0,50	0,490
Engrasamiento, 1-15 (1-5)	5,0 (2)	5,9 (2+)	0,07	***
Longitud canal, cm	128,3	125,9	0,96	0,106
Ancho canal, cm	61,0	56,0	1,75	0,059
Prof. Interna pecho, cm	35,3	34,8	0,59	0,522
Longitud pierna, cm	81,8	80,8	0,52	0,189
Ancho pierna, cm	27,9	28,8	0,84	0,485
Perímetro pierna, cm	118,0	118,1	1,18	0,929
Prof. Pierna, cm	41,6	42,9	0,83	0,281

***, P<0.0001

Hubo diferencias entre lotes en el porcentaje de carne comercializable a favor del lote francés, principalmente debido a un mayor porcentaje de carne de tercera y primera (P<0,05). El lote de origen español tuvo mayor porcentaje de grasa de recorte (P<0,05),

aunque este porcentaje fue más bajo que el encontrado en muchas de las razas cárnicas europeas (Albertí et al., 2008).

Aunque no hubo diferencias entre los lotes en cuanto a formato de las canales, si hubo diferencias en el despiece comercial y en la cantidad de grasa de recorte y subcutánea. Estas diferencias se debieron además de al origen de los animales, a su manejo y a la alimentación previas al cebo, estando afectadas por un crecimiento compensatorio. La baja proporción de grasa es parecida a razas consideradas cárnicas magras como Asturiana de los Valles o Rubia gallega, mientras que su porcentaje de hueso es similar a razas rústicas. La raza Gasconne sería una raza fuerte que conserva una buena estructura ósea que le permite desenvolverse bien en entornos de pastoreo accidentados y que por selección genética posee un buen desarrollo muscular y poco desarrollo adiposo.

Tabla 3. Composición tisular y proporción de categorías comerciales de la canal de añojos españoles (ESP) y franceses (FRA).

	ESP	FRA	e.e.	Sig.
Carne comercializable, %	74,7	76,9	0,70	0,041
- Extra, %	2,0	2,2	0,04	0,003
- Primera,%	47,2	47,2	0,53	0,988
- Segunda, %	7,5	7,7	0,10	0,108
- Tercera, %	18,0	19,8	0,22	***
Grasa recorte, %	6,3	5,0	0,40	0,041
Hueso, %	19,0	18,1	0,37	0,090
Carne/Hueso	4,0	4,3	0,12	0,081

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albertí et al. 2001a. ITEA, Vol Extra 22, 511-513 • Albertí et al. 2001b. Informaciones Técnicas, 101. • Albertí et al. 2005a. Carcass characterization of seven Spanish beef breeds slaughtered at two commercial weights. Meat Sci. 71: 514-521. • Albertí et al. 2005b. Composición tisular y comercial y características de la canal de terneros cruzados de raza Retinta. ITEA, vol. Extra, 26(II), 795-797. • Albertí et al. 2008. Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. Livestock Science, 114(1), 19-30. • Piedrafita et al. 2003. Carcass quality of 10 beef cattle breeds of the Southwest of Europe in their typical production systems. Livestock Production Science, 82, 1-13. • Renand et al. 2002. Caractérisation des aptitudes bouchères et qualités de la viande de trois systèmes de production de viande bovine à partir des races rustiques françaises Salers, Aubrac et Gasconne. INRA Prod. Anim., 15, 171-183.

Agradecimientos: Trabajo ha sido cofinanciado por POCTEFA 88/08 OTRAC y fondos FEDER.

PRODUCTIVE PARAMETERS AND CARCASS QUALITY OF GASCONNE BREED

ABSTRACT Ten Spanish young bulls weaned at five month and ten French young bulls weaned at seven month, were fed on concentrates and slaughtered at 510 kg. The aim of this study was to assess the performances, carcass measurements and carcass tissue composition of the animals. French young bulls showed greatest average daily gain and most fattened carcasses without significant differences in carcass measurements respect to Spanish animals. Great bone percentage and low trim fat percentage suggest that Gasconne is a rustic breed selected towards great muscle growth and lean meat.

Keywords: *dressing percentage, zoometric measurements, tissue composition.*

COLOR DE LA GRASA SUBCUTÁNEA Y EVOLUCIÓN DEL COLOR DE LA CARNE EN FILM Y EN ATMÓSFERA PROTECTORA DURANTE EL PERIODO DE VENTA DE TERNEROS DE RAZA GASCONNE

Albertí, P.¹., Ripoll, G.¹., Panea, B.¹., Guerrero, A.². y Santolaria, P.³.

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana, 930 50059 Zaragoza. palberti@aragon.es

² Facultad de Veterinaria, C/ Miguel Servet, 177, 50013 Zaragoza.

³ Escuela Politécnica Superior Ctra. Cuarte s/n 22071 Huesca

INTRODUCCIÓN

La carne de la raza Gasconne es prácticamente desconocida en el mercado español, ya que la introducción de ganado de esta raza en España es reciente. En su departamento de origen l'Ariège (Francia), la carne procede de animales enteros o castrados cebados en un sistema tradicional con dietas mixtas (pastos y pienso) y sacrificados a un peso canal medio de 380 kg. Por el contrario los ganaderos españoles ceban con pienso los terneros de esta raza y los sacrifican en la categoría Añejo. El objetivo de este trabajo fue valorar el color de la carne y de la grasa de terneros cebados a pienso procedentes en su fase de cría de un sistema de cría tradicional francés con destete tardío tipo *pastero/brouard* o bien de un sistema de cría más extensivo en España y destete precoz.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron veinte animales de dos orígenes diferentes. El primer lote lo componían diez terneros machos enteros de procedencia española, que habían sido criados en un sistema estabulado, destetados precozmente antes de los cinco meses y pasados a la fase de cebo con pienso y paja. El segundo lote estaba constituido por diez terneros machos enteros de origen francés, criados con sus madres en el sistema tradicional en praderas de montaña y destete tardío a los siete meses. Los animales fueron cebados con pienso y sus parámetros productivos y de canal se detallan en Ripoll et al. (2011). Tras el sacrificio en MercaZaragoza se tomaron 2 filetes de 2,5 cm que se utilizaron para medir la evolución del color del músculo *Longissimus dorsi* en atmósfera protectora (MAP) y dos filetes de igual grosor para la evolución del color en film permeable al oxígeno:

Dos de los filetes fueron divididos en tres trozos cada uno y se distribuyeron en seis bandejas para evaluar en el momento del corte o tiempo 0, a los 15 minutos y 24h (en una bandeja), 48 h, 5d, 8d, 12d y 15d. En cada bandeja se depositaron 10 piezas de carne, una de cada animal, se envasó en film permeable al oxígeno, y fueron mantenidas en oscuridad y a temperatura <4° C. A cada tiempo se midió la claridad (L^*), el índice de rojo (a^*) y el índice de amarillo (b^*) con un espectrocolorímetro Minolta 2600d con el iluminante D65 y el observador CIE 1964 con un ángulo de visión de 10°. Se calcularon el croma ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$) y el tono ($h = \arctg(a^*/b^*) \times 57,29$). Los otros dos filetes fueron divididos en cuatro trozos. En cada una de las cuatro bandejas se depositaron 10 piezas de carne, una de cada animal y se envasó con una atmósfera protectora (MAP, 70% O₂, 20% CO₂ y 10% N₂) expuesta en una vitrina refrigerada <4° C e iluminada con lámparas fluorescentes (450 lux), durante 12 horas diarias. Se midió la evolución del color a 1 d, 4 d, 6 d y 8 d, con la misma metodología descrita en film. A las 24 h del sacrificio se midió en dos puntos el color de la grasa subcutánea a la altura de la T10 con el espectrocolorímetro Minolta 2600d con la misma metodología que para el color de la carne.

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete estadístico SAS, mediante el procedimiento Mixed para valorar la evolución del color en el tiempo, y el procedimiento GLM para el color de la grasa.

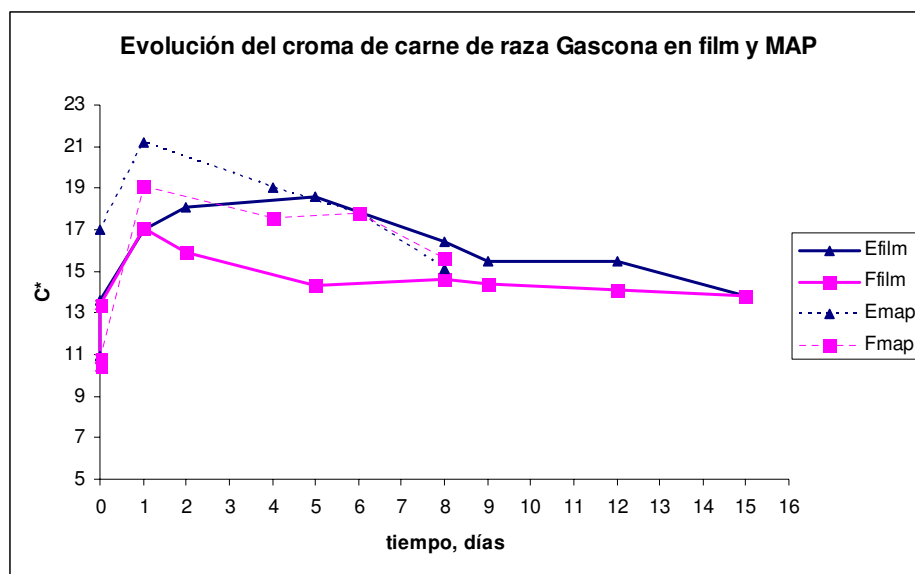
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El color de la grasa subcutánea de los terneros franceses fue ligeramente menos luminosa y con mayor índice de amarillo (Tabla 1) lo cual podría estar relacionado con el acumulo de pigmentos vegetales durante el periodo de cría en puerto (Albertí et al., 2010). No obstante, aunque el color de la grasa de ambos lotes tuvo mayor croma (grasa blanco-rosada), que la de los terneros de razas españolas (Albertí et al., 2003), este color estaría bien aceptado por el mercado español.

Tabla 1. Color de la grasa subcutánea.

	ESP	FRA	e,e,	Sig.
L* (luminosidad)	72,0	69,7	0,50	**
a* (rojo)	2,1	2,4	0,32	ns
b* (amarillo)	9,9	11,6	0,48	*
Tono (h*)	78,3	78,8	1,18	ns
Croma, (C*)	10,2	11,7	0,53	ns

En la figura 1 aparece la evolución del color de la carne de terneros de origen español o francés envasada en film permeable al oxígeno y almacenada en refrigeración y oscuridad o envasada en atmósfera protectora y almacenada en refrigeración y con luz. Se aprecia que la evolución del color fue distinta según el sistema de envasado, con MAP se consigue carne más roja (tono bajo) y color más vivo (C* alto) en los primeros momentos del envasado. Pero el tono aumenta rápido indicando mayor decoloración y la pendiente de la línea de evolución del croma es mayor en MAP que en film, lo que indica que evoluciona más rápido a color más apagado. El lote de origen de los animales fue significativo ($p < 0.0001$) para las variables croma y tono de la carne envasada en MAP, mientras que no lo fue para la envasada en film y el origen también fue significativo para la variable claridad en el envasado MAP. No obstante se dio una interacción entre lote origen y tiempo para las tres variables en la carne envasada en MAP, mientras que esa interacción solo fue significativa para el croma en la carne envasada en film.



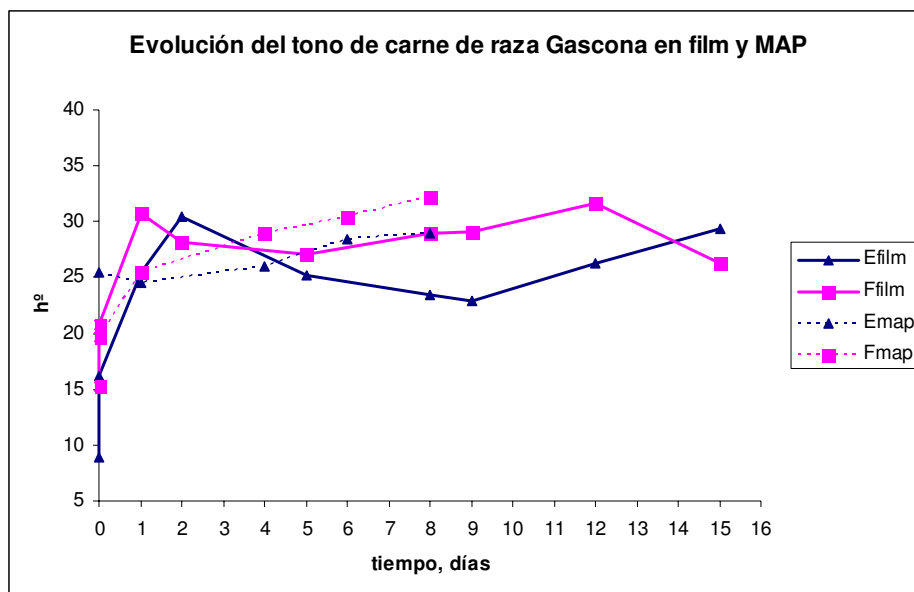


Figura1. Evolución del color de la carne de terneros de raza Gascona de origen español (E) o francés (F) envasada en film o envasada en MAP

El color de la carne de la raza Gascona es más parecida a la carne rojo cereza de las raza Retinta o Parda que a la carne rojo pálido de las raza Pirenaica. (Albertí et al., 2003). La vida útil por la evolución del color estaría en torno 9 días envasada en film y 6 días en MAP. La mayor concentración de oxígeno de la atmósfera MAP provoca que las primeras horas el color sea más agradable para el comprador, pero también se aceleran los procesos oxidativos y más al estar en condiciones de mucha iluminación.

Agradecimientos: proyecto financiado por fondos Feder POCTEFA 88/08 OTRAC.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí P., Ripoll G., Sañudo C., Olleta J.L., Panea B., Lahoz F. 2003. ITEA extra 24, 73-75.
- Ripoll G., Albertí, P., Panea B., Campo, M.M., Guerrero, A., Olleta, J.L., Sañudo, C., Santolaria P. 2011 Jornadas AINDA-ITEA (en prensa).

SUBCUTANEOUS FAT COLOUR AND BEEF COLOUR EVOLUTION ON FILM OR MAP PACKAGE DURING DISPLAY OF YOUNG BULLS GASCONNE BREED

ABSTRACT

The Gasconne beef of young bulls fed concentrates (Añojo commercial category in Spain) is a new product on the Spanish market and its characteristics are not well known by consumers. Gasconne subcutaneous fat colour had more chroma than Spanish cattle breeds, with a cream- pinkie aspect appearance. The meat colour is cherry-red, and packaged in film has a shelf live about 9 days or 6 days in MAP.

Keywords: meat colour, fat colour, shelf life.

EFFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN PREVIO AL CEBO SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL DE LA CARNE DE VACUNO

Guerrero, A.¹, Albertí, P.², Sañudo, C.¹, Campo, M.M.¹, Olleta, J.L.¹, Panea, B.², Ripoll, G.²
Monge, P.¹ y Santolaria, P.³

¹Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.
aguerre@unizar.es

²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Avenida de Montañana, 930, 50059. Zaragoza.

³ Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Zaragoza. Carretera Cuarte s/n, 22071. Huesca.

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Gasconne en Francia, su país de origen, suele seguir, un sistema de producción de terneros basado en destetes tardíos y alimentación en pasto (sistema extensivo). Cuando esta raza se explota en España, en muchos casos, se aplica otro sistema de producción basado en destetes tempranos (sistema semi intensivo). En ambos casos los terneros muchas veces son alimentados en cebaderos industriales españoles con pienso y paja (sistemas intensivos)

El objetivo de este trabajo fue estudiar si el sistema de producción anterior al proceso de cebo (extensivo ó semi-intensivo) afecta a los parámetros de calidad instrumental del producto final (*pH*, concentración de mioglobina en músculo y textura).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 terneros machos de raza Gasconne, procedentes de dos orígenes y sistemas de productivos diferentes. El primer lote lo componían 10 animales franceses, (sistema extensivo); el segundo lote lo componía 10 terneros de origen español (sistema semi-intensivo). Los animales fueron cebados con paja y pienso *ad libitum* (1UFC/kg; 13.6 %PB; 5.6% GB) hasta alcanzar un peso medio final de unos 510 kg.

A las 24 horas post sacrificio se extrajo el músculo *Longissimus dorsi* en el cual se midió el *pH* en la zona lumbar y se procedió a realizar el muestreo, obteniendo de cada animal: 2 filetes de 2 cm para medir la capacidad de retención de agua (CRA) y pigmentos (mioglobina) así como 5 filetes de 3,5 cm para los análisis de textura.

La CRA se determinó a 48 h mediante pérdidas por goteo; a los 7 días (pérdidas por compresión Grau y Hamm) y las pérdidas por cocinado tras congelación y posterior descongelación. La determinación de la mioglobina se realizó a los 7 días de maduración (a 4°C) mediante el método Hornsey (1956).

Para los análisis de textura, los distintos filetes obtenidos de cada animal se maduraron a temperatura de refrigeración durante 1, 3, 7, 14 y 21 días; momento en el cual fueron congelados y mantenidos a -18°C hasta su posterior análisis. Previo a cada análisis las muestras se descongelaron a temperatura de refrigeración (4°C) durante 24 horas. Los análisis se realizaron con el texturómetro INSTRON 4301. Para el análisis en carne cruda se utilizó la célula de compresión y se calculó el esfuerzo necesario para la compresión total de la muestra, así como para la compresión del 20% y 80% de su espesor. (Lepetit et al., 1994) Con respecto a la célula de Warner- Bratzler, las muestras se cocinaron al baño maría hasta alcanzar una temperatura interna de 70°C y una vez preparadas se midió la carga máxima por unidad de superficie para cortar la muestra, así como su dureza (Honikel, 1998).

Para los análisis estadísticos se realizaron análisis de varianzas mediante el programa SPSS v15.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como muestra la Tabla 1 el pH resultó ser significativamente diferente entre los lotes, ligeramente superior en el lote procedente de un sistema semi-intensivo, pero todos los animales se encontraron dentro de valores normales. También hubo diferencias significativas en la CRA, las cuales, al covariar por pH, desaparecen. El lote francés (extensivo) presentó mayores pérdidas por goteo, en cambio en el español (semi-intensivo) se obtuvo un mayor porcentaje de pérdidas por compresión y cocinado. En ambos casos fueron valores superiores a los encontrados en otras razas cárnicas por Albertí (2002) y Vieira et al., (2006).

Se encontraron diferencias significativas en los pigmentos musculares, la cantidad de mioglobina por gramo de músculo fresco fue mayor en el lote de origen semi-intensivo, pero ambos dentro del rango de valores obtenidos en otras razas cárnicas (Sañudo et al., 1998). Los análisis de textura revelan como el sistema productivo anterior previo al cebo no tiene un efecto significativo sobre los parámetros estudiados, excepto en dureza donde se observa una ligera tendencia a menor dureza en el lote francés. Principalmente se observa un efecto de la maduración. Así, la fuerza necesaria para comprimir la muestra al 20% así como la carga máxima al corte disminuyeron con el tiempo de maduración. La dureza también disminuyó aunque no significativamente. La fuerza obtenida para comprimir las muestras un 80% (C80%) se asocia al tejido conectivo y fue similar a las obtenidas en otras razas (Monsón et al., 2004).

En conclusión, los resultados indican que respecto a la CRA y pigmentos existen diferencias entre los sistemas productivos anteriores al cebo, pero en ambos casos los valores se encuentran en rangos normales. Según los datos obtenidos en textura el momento óptimo para el consumo de esta carne estarían en torno a los 7-14 días de maduración, que es cuando por efecto de la maduración la carga máxima es menor a 5 kg.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albertí P.(coord). 2002. Informe final INIA SC97-019 ●.Honikel K.O. 1998. Meat Sci. 49, 447-457. ● Hornsey H.C. 1956.J Sci Food Agric 7, 534-540. ● Lepetit J., Culioli J. 1994. Meat Sci. 36, 203-237.● Monsón F., Sañudo C., Sierra I. 2004. Meat Sci. 68, 595-602.● Sañudo C., Cañeque V. 2005.Monografía INIA, serie ganadera 3. ● Sañudo C., Albertí P., Campo M.M., Olleta J.L., Panea B. 1998. Arch. Zootec. 48, 397- 402. ● Vieira C., García- Cachán M.D., Recio M.D., Dominguez M., Sañudo C. 2006.Spanish Journ. Agric. Res. 4 (3), 225 – 234.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado por el proyecto europeo POCTEFA-OTRAC.

Tabla 1. pH, CRA y mioglobina de carne de terneros Gasconne procedentes de dos sistemas de producción distintos previo al cebo.

Sistema Producción	Semi-intensivo	Extensivo	Sig
pH 24 h	5,74	5,57	***
Pérdidas goteo (%)	0,86	1,79	***
Pérdidas goteo ¹ (%)	1,01	1,66	NS
Pérdidas por compresión (Grau y Hamm)	23,5	21,4	*
Pérdidas cocinado (%)	18,8	17,1	t
Mioglobina (mg/g músculo fresco)	3,97	3,36	***

¹ ANOVA de las pérdidas por goteo covariando por el pH. Se estiman las pérdidas para un pH medio de 5,65, [$r_{(pH,p,goteo)} = -0,68^{***}$].

NS: Diferencias no significativas; t= $p \leq 0,1$; * = p-value $\leq 0,050$, *** = p-value $\leq 0,001$
Grau y Hamm: CRA = $((Pi - Pf) / Pi) * 100$

Tabla 2. Valor F y significación de efectos (sistema de producción previo al cebo y maduración) sobre la textura en carne de terneros de raza Gasconne.

		Maduración	Sist. Producción	M x S.P.
Compresión	C 20%	9,31 ***	NS	NS
	C 80%	2,50 *	NS	NS
Warner- Bratzler	Fuerza Máxima	NS	NS	NS
	Carga Máxima	9,01 ***	NS	NS
	Dureza	NS	0,91 t	NS

NS: diferencias no significativas; t= $p \leq 0,1$; * = $p \leq 0,05$; *** = $p \leq 0,001$

M x S.P. = Interacción Maduración x Sistema Producción

Tabla 3. Valores de textura de carne de terneros de raza Gasconne con distintas maduraciones.

Maduración	(Días)	1	3	7	14	21
Compresión	C 20% (N/cm ²)	7,59 ^a	5,84 ^b	4,44 ^c	4,43 ^c	4,78 ^{bc}
	C 80% (N/cm ²)	34,59 ^b	33,51 ^b	34,17 ^b	36,76 ^a	39,82 ^a
Warner-Bratzler	Fuerza Máxima (N)	47,38	44,99	47,04	50,29	52,27
	Carga Máxima (kg)	5,87 ^a	5,53 ^a	4,66 ^b	4,33 ^b	4,33 ^b
	Dureza (kg/cm ²)	2,10	2,15	1,91	1,86	1,91

Medias con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

EFFECT OF THE PRODUCTION SYSTEM PREVIUS TO FATTENING ON INSTRUMENTAL QUALITY OF BEEF: EFFECT ON INSTRUMENTAL QUALITY

ABSTRACT. 20 young males of Gasconne breed originated from two different production systems (extensive and semi-intensive) were fed until 510 kg and slaughtered. After 24 hours *Longissimus dorsi* was obtained and pH was measured. For each animal two 2 cm steaks were used to evaluate drip lost at 48 h and expressible juice and myoglobin pigment (Hornsey) at 7 days of ageing. Five steaks were aged for 1,3,7,14 & 21 days and they were used for texture analysis and cooking losses after freeze, store and thaw. The instrumental analysis were executed by INSTRON 4301, and calculated with compression probe in raw meat (Max load, C 20% and C 80%) and with Warner- Bratzler probe in cooked meat (max load and toughness cooked until 70°C).

It was found statistical differences between the previous production system in pH, water holding capacity and myoglobin. The semi-intensive group showed bigger pH, expressible juice (%), cooking loss (%) and concentration of myoglobin than extensive group, which had bigger value in drip loss. In both cases the values are normal.

In texture analysis it was not effect of the previous production system, only it was found effect of ageing in compression (C20% and C80%) and in W-B (Max load), which improve statistically the meat tendernes.

Keywords: Production system, meat, texture, WHC, Gasconne

EFFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN PREVIO AL CEBO SOBRE EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y CALIDAD SENSORIAL DE LA CARNE DE VACUNO

Guerrero, A.¹, Sañudo, C.¹, Albertí, P.², Campo, M.M.¹, Olleta, J.L.¹, Resconi, V.¹, Panea, B.², Ripoll, G.² y Santolaria, P.³

¹ Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. aguerre@unizar.es

² Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria. Avenida de Montañana, 930, 50059. Zaragoza.

³ Escuela Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Zaragoza. Carretera Cuarte s/n, 22071. Huesca.

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Gasconne en Francia, su país de origen, suele seguir un sistema de producción previo al cebo basado en destetes tardíos y alimentación en pasto (sistema extensivo); cuando esta raza se explota en España se utiliza también otro sistema de producción basado en destetes tempranos (sistema semi-intensivo). En el presente trabajo se estudiará si existe influencia de estos dos posibles sistemas productivos en la calidad del producto final. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto del sistema productivo previo al proceso de cebo sobre el perfil de los ácidos grasos de la carne de terneros de raza Gasconne, así como la percepción sensorial del producto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 20 terneros machos de raza Gasconne, procedentes de dos orígenes y sistemas de productivos diferentes. El primer lote lo componían 10 animales franceses (sistema extensivo); el segundo lote lo componía 10 terneros de origen español (sistema semi-intensivo). Posteriormente, los animales fueron cebados con paja y pienso ad libitum (1UFC/kg, 13.6 %PB, 5.6% GB) hasta alcanzar un peso final de unos 510 kg.

A las 24 horas post sacrificio se extrajo el músculo *Longissimus dorsi* del cual, para realizar el perfil de ácidos grasos, se extrajo un filete de 1,5 cm a la altura de la 6ª costilla y para la realización del análisis sensorial se extrajeron 3 filetes de 2 cm por animal de la región lumbar. Las muestras se envasaron individualmente al vacío; las destinadas al análisis de ácidos grasos se congelaron a -18°C y las de análisis sensorial se dejaron madurar en refrigeración (4°C) durante 1, 7 ó 21 días respectivamente, momento en el cual fueron congeladas y mantenidas a -18°C hasta su posterior análisis.

Para la realización del perfil de ácidos grasos se extrajo la grasa intramuscular utilizando el método de Bligh y Dyer (1959), mediante la metilación con KOH en metanol y posterior detección de los ácidos grasos en un cromatógrafo de gases HP 6890. El estudio estadístico se realizó con ayuda del paquete estadístico SPSS v15.0 mediante el cálculo de análisis de varianzas.

El análisis sensorial se realizó con un panel entrenado de 9 miembros, los cuales evaluaron las muestras de carne basándose en un análisis descriptivo, todo el proceso se llevó a cabo en cabinas homologadas, y con luz roja. Previo a cada sesión las muestras se descongelaron a temperatura de refrigeración (4°C) durante 24 horas. Tras ello se cocinaron en un grill industrial de doble placa a 200°C hasta alcanzar la temperatura interna de 70°C. El orden de degustación de las muestras fue diferente y aleatorio para cada panelista en cada una de las sesiones, ya que se realizó un diseño de bloques incompleto y equilibrado en el que se valoraba la intensidad de olor a vacuno, lácteo y grasa, la terneza y jugosidad así como la intensidad de flavor vacuno, ácido, grasa, lácteo, metálico y la apreciación global; en una escala semiestructurada de 100 puntos, donde 0 es ausencia de olor/flavor o muy baja terneza, jugosidad y aceptabilidad, y 100 es un olor/flavor muy intenso así como una alta terneza, jugosidad o aceptabilidad. Se estudió el efecto sistema de producción previo, maduración y la interacción entre ambas análisis de la varianza, GLM, utilizando el paquete estadístico SAS (v.8.01). Las diferencias entre medias se determinaron con un test de Duncan y también se realizó un análisis de componentes principales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo se han identificado un total de 30 ácidos grasos. Los resultados obtenidos muestran que existen diferencias significativas en el perfil de ácidos grasos

especialmente en el porcentaje de ácidos grasos ω -3 (Tabla 1), el cual es doble en los animales procedentes de pasto previo al cebo, resultados que se corresponden con los obtenidos por otros autores (Albertí et al., 2010; Nuernberg et al., 2005). También se observó que el porcentaje de ácidos grasos saturados fue ligeramente superior en el lote procedente de un sistema semi-intensivo.

Con respecto al análisis sensorial no han aparecido diferencias significativas por el sistema previo de producción, ni interacción de este con la maduración. Por lo que en la Tabla 2 sólo se indican los resultados por tiempo de maduración. Maduraciones de 21 días conllevan mayor aceptabilidad, terniza así como mayor intensidad en el flavor y olor a vacuno. El PCA realizado (Figura 1) muestra como a pesar de no existir diferencias significativas entre los sistemas de producción previos al cebo la dinámica en la maduración es diferente para cada origen, variando más las cualidades sensoriales con la maduración en el lote francés que en el español. (Monsón et al. 2005).

Como conclusión se puede decir que los animales procedentes de pasto previo al cebo contiene una proporción de n-6 / n-3 más baja (y saludable) (Wood et al., 2004) sin tener efecto sobre las características sensoriales ni aceptación de la carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albertí P., Ripoll G., Panea B., Casasús I., Joy M., Congost S., Vallés M. 2010. Informaciones técnicas. D.G. D. R., Gob.Ara, Nº 215. • Bligh, E. G., Dyer, W. J. 1959. Can. J. Biochem. Physiol., 37: 911-917 • Monsón F., Sañudo C., Sierra I. 2005. Meat Sci. 71,471-479 • Nuernberg, K.; Dannenberger, D.; Nuernberg, G.; Ender, K.; Voigt, J.; Scollan, N.D.; Wood, J.D.; Nute, G.R. and Richardson, R.I. 2005. Livest. Prod. Sci. 94, 137-147. • Wood J.D., Richardson R.I., Nute G.R., Fisher A.V., Campo M.M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. 2004. Meat Sci. 66, 21-32.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto europeo POCTEFA-OTRAC 88/08.

Tabla 1. Composición de los grupos de ácidos grasos obtenidos en la grasa intramuscular de terneros procedentes de dos sistemas de producción distintos previos al cebo. (Media \pm D.s)

Composición química (%)	Semi-intensivo	Extensivo	Sig
% SAT	46,44 \pm 1,42	45,17 \pm 2,04	*
% MUFA	39,44 \pm 2,83	38,90 \pm 4,41	NS
% PUFA	11,14 \pm 3,18	12,64 \pm 5,10	NS
% n-3	0,30 \pm 0,09	0,65 \pm 0,26	***
%n-6	10,45 \pm 3,11	11,58 \pm 4,91	NS
PUFA/SAT	0,24 \pm 0,07	0,28 \pm 0,13	NS
n-6/n-3	34,78 \pm 5,08	17,89 \pm 2,57	***

NS: Diferencias no significativas; * = p-value \leq 0,050, *** = p-value \leq 0,001

Tabla 2. Características sensoriales de carne de ternero de raza Gasconne a tres tiempos de maduración. (Media \pm d.e)

	1 día	7 días	21 días
Olor vacuno	45,44 \pm 5,97 b	48,57 \pm 3,48 a	48,68 \pm 4,37 a
Olor lácteo	31,01 \pm 7,94	31,43 \pm 3,85	28,45 \pm 5,66
Olor grasa	29,33 \pm 6,10	29,59 \pm 5,43	29,81 \pm 5,35
Terneza	41,59 \pm 10,76 c	56,70 \pm 10,52 b	64,32 \pm 8,02 a
Jugosidad	43,50 \pm 6,18	45,49 \pm 7,01	46,87 \pm 7,23
Flavor vacuno	50,40 \pm 4,91 b	54,20 \pm 3,35 a	54,55 \pm 3,26 a
Flavor ácido	35,31 \pm 6,61	34,83 \pm 4,31	36,15 \pm 6,80
Flavor grasa	37,86 \pm 4,82	40,03 \pm 4,38	39,49 \pm 4,19
Flavor lácteo	29,77 \pm 4,85	29,66 \pm 4,28	29,80 \pm 5,72
Flavor metálico	26,26 \pm 4,49	30,10 \pm 7,15	28,40 \pm 7,23
Aceptabilidad	36,7 7 \pm 4,87 b	40,38 \pm 5,48 ab	42,01 \pm 5,98 a

Letras diferentes en la misma variable sensorial indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

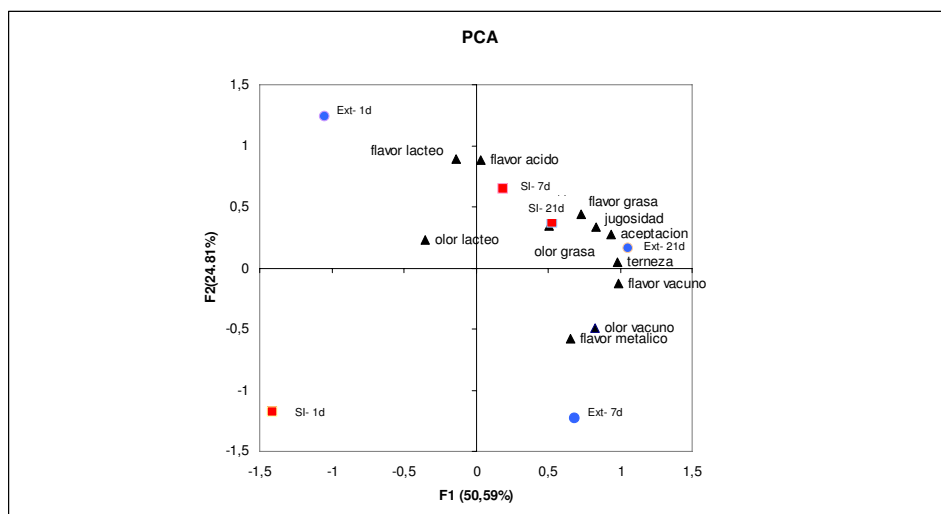


Figura 1. Analisis de Componentes Principales (análisis sensorial)

Sistema producción: Ext: Extensivo, SI: Semi-intensivo. Maduración: 1, 7 o 21 días

EFFECT OF PRODUCTION SYSTEM PREVIUS TO FATTENING ON FATTY ACID COMPOSITION AND SENSORY QUALITY OF BEEF MEAT

ABSTRACT: 20 young males from Gasconne breed originated from two different production systems (extensive and semi-intensive) were fattened until 510 kg (slaughter live weight). After 24 hours *Longissimus dorsi* was obtained. For each animal one 1,5 cm steak was frozen for posterior fatty acids analysis (Bligh & Dyer) and three 2 cm steaks were aged during 1, 7 and 21 days at 4°C and later frozen for sensory analysis. A taste panel assessed beef odours and flavours intensities and overall acceptability in grilled meat. Result showed influence of previous production system to fattening in the percentage of saturated and n-3 fatty acids, being bigger the proportion of n-3 in the extensive systems and bigger the SAT % and n-6 / n-3 relationship in the semi-intensive system. In sensory analysis it had not effect of the previous to fattening production system. Only, it was found effect of ageing, which increase statistically the beef odour and flavour, tenderness and global acceptability.

Keywords: Production system, meat, fatty acids, sensory analysis.

CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y DE LA CARNE DE TERNEROS LECHALES: COMPARACIÓN DE LOS GENOTIPOS LIMUSÍN Y TUDANCA X CHAROLÉS

Jaroso¹, R., Lavín¹, P., Palencia², P. y Mantecón¹, A.R.

¹IGM (CSIC). Finca Marzanas 24346 Grulleros (León). paz.lavin@eae.csic.es.

²Fundación Botín, C/ Pedrueca 1, Santander.

INTRODUCCIÓN

En el desarrollo de un sistema de producción-comercialización de carne de vacuno la raza de los animales puede determinar la calidad del producto obtenido. En las explotaciones de vacuno de carne del Valle de Nansa (Cantabria) existe una gran diversidad racial (Lavín et al., 2011). En este trabajo se plantea la comparación de las características de la canal y de la carne de dos de los genotipos presentes en esta zona para lograr un producto distinto al existente en el mercado actual, procedente de animales jóvenes y alimentados hasta el sacrificio en condiciones de pastoreo suplementados con pienso y lactancia natural con sus madres. El objetivo es obtener una carne de vacuno que mejore la rentabilidad de las explotaciones actuales como alternativa al sistema actual de producción donde los terneros son vendidos como pasteros para finalizar el cebo en otras explotaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio se compararon dos genotipos (Limusín y cruce Tudanca x Charolés) pertenecientes a dos explotaciones de vacuno de la montaña de Cantabria (Valle del Nansa). Se utilizaron 12 terneros machos (6 animales x 2 genotipos), los animales nacieron en primavera (marzo-abril de 2010) y permanecieron en condiciones de pastoreo y lactancia natural con sus madres, suplementados con pienso a libre disposición en tolva de acceso restringido para las vacas, hasta que se sacrificaron en el mes de octubre a una edad de 6-8 meses. Una vez en el matadero se obtuvo información del peso del animal vivo y de la canal. La canal fue clasificada de acuerdo con la normativa europea, según su conformación (SEUROP) en una escala de 1 a 18 puntos y engrasamiento en una escala de 1 a 15 puntos. Tras 24 horas de oreo a 2°C se registraron las medidas en la media canal izquierda (longitud, perímetro, diámetro de la pierna y profundidad del tórax) y se calculó el índice de compacidad de la canal como la relación entre el peso y longitud de la misma. Se tomaron medidas de los parámetros colorimétricos: luminosidad (L*), índice de rojo (a*), e índice de amarillo (b*) en el músculo *pectoralis profundus*, y de la grasa subcutánea en la zona comprendida entre la 6ª y 10ª costilla, así como el pH en el músculo *longissimus lumborum* a la altura de la 3ª vertebra lumbar. Una vez transcurrido el periodo de maduración de 5 días se realizó el despiece comercial y se calculó el rendimiento (% de la carne envasada de la canal). A partir del músculo *longissimus thoracis* de la 6ª costilla se realizó el análisis químico de la carne, en la 5ª costilla se midió el pH y de la 7ª costilla se tomaron muestras de dos replicas para medir la capacidad de retención de agua a partir de las pérdidas por goteo. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa estadístico SPSS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los datos de las características de la canal y de la carne de los terneros de ambos genotipos. La edad media de los animales en el momento del sacrificio, así como el peso vivo y el peso de la canal fría presentaron diferencias estadísticamente significativas entre genotipos con mayores valores en la raza Limusín. En cuanto a las características de la canal también fueron estadísticamente significativas las diferencias encontradas tanto en el rendimiento como en la conformación, con mayores valores en los animales Limusín. Sin embargo la clasificación de engrasamiento de la canal no presentó diferencias estadísticamente significativas entre genotipos aunque el valor fue mayor en los animales Tudanca x Charolés.

En las medidas registradas en la canal; la longitud, el perímetro y el diámetro de la pierna presentaron diferencias estadísticamente significativas con mayores valores en la raza Limusín, al igual que en el índice de compacidad de la canal. Los parámetros colorimétricos luminosidad (L*) e índice de rojo (a*) del músculo de la canal mostraron valores superiores en los animales de raza Limusín, en la grasa únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre genotipos el índice de rojo (a*) con un mayor valor en los terneros procedentes del cruce Tudanca x Charolés.

Tabla 1. Características de la canal y de la carne de los terneros en los dos genotipos considerados.

	Limusín	Tudanca x Charolés	p
Edad al sacrificio (días)	213,8±1,25	198,7 ± 3,00	***
Peso vivo sacrificio (kg)	318,0± 14,53	255,5±8,58	**
<i>Características de la canal</i>			
Peso canal fría (kg)	192,5±9,52	144,8±6,84	**
Rendimiento a la canal (%)	60,5±0,69	56,6±1,09	*
Conformación (SEUROP 1-18)	10,50±0,428	6,67±0,333	***
Engrasamiento (1-15)	4,33±0,494	5,00±0,000	NS
<i>Medidas de la canal</i>			
	106,8		
Longitud de la canal (cm)	105,0±1,84	106,8±1,22	NS
Longitud pierna (cm)	73,7±1,31	69,6±0,62	*
Perímetro pierna (cm)	107,3±1,17	93,8±1,44	***
Diámetro pierna (cm)	25,9±0,61	21,7±0,59	***
Profundidad torácica (cm)	50,7±1,02	49,4±0,69	NS
Índice compacidad (kg/cm)	1,87±0,068	1,38±0,053	***
<i>Color de la canal</i>			
Músculo L*	42,5±0,94	36,5±1,23	***
Músculo a*	14,6±0,33	13,1±0,62	*
Músculo b*	5,50±0,593	3,94±0,619	NS
Grasa L*	69,8±1,12	70,0±1,22	NS
Grasa a*	1,88±0,343	3,78±0,430	**
Grasa b*	11,2±1,06	13,3±0,75	NS
<i>Composición de la carne (% MF)</i>			
Humedad (%)	75,9±0,22	75,6±0,14	NS
Proteína (%)	22,2±0,61	21,7±0,34	NS
Grasa (%)	1,44±0,107	2,46±0,385	*
Cenizas (%)	1,29±0,033	1,37±0,045	NS
Energía (Kcal/g)	1,39±0,022	1,43±0,018	NS
<i>Características de la carne</i>			
CRA (% pérdidas)	1,99±0,282	2,34±0,325	NS
pH carne-despiece	5,64±0,007	5,72±0,017	***
L*	47,7±0,32	43,3±0,24	***
a*	7,6±0,802	12,0±0,381	***
b*	5,81±0,665	4,32±0,249	*
Rendimiento (% carne envasada de la canal)	79,6±1,03	77,5±0,88	NS

*($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$), NS ($p > 0,05$). CRA (Capacidad de retención de agua).

El análisis químico del músculo *longissimus thoracis* correspondiente a la 6ª costilla mostró un contenido en grasa significativamente superior en el genotipo (Tudanca x Charolés) que en la raza Limusín, resultado esperado al ser la raza Limusín especializada en la producción de carne y por tanto de desarrollo más tardío (Alberti et al, 2001). La capacidad de retención de agua medida por pérdidas por goteo no presentó diferencias estadísticamente significativas entre genotipos, mientras que el pH de la carne en el momento del despiece de las canales mostró valores superiores en el genotipo Tudanca x Charoles, si bien los valores se pueden considerar como normales para este tipo de carne (Revilla et al, 2006; Warris, 2000). El color de la carne, factor determinante en la decisión de compra del consumidor, presentó valores medios que pueden considerarse aceptables para la edad de los animales, al ser animales que permanecen en pastoreo (Monserrat et al, 2001). Al analizar las diferencias ente genotipos, el índice de luminosidad (L*), mostró diferencias estadísticamente significativas con menores valores en el genotipo Tudanca x Charolés.

El rendimiento de la canal en relación a la carne envasada obtenido en el despiece comercial fue del 78,6%, no mostrando diferencias estadísticamente significativas entre genotipos, a pesar de las diferencias encontradas en la valoración subjetiva de conformación de las canales y las medidas de morfología indicadas.

La producción de lechales en condiciones extensivas, criados en pastoreo suplementados con pienso y lactancia natural, permite obtener canales bien valoradas por las estructuras de comercialización por el aspecto de la carne y por dar lugar a piezas de pequeño tamaño que permiten una alta rotación de los productos en el punto de venta. El genotipo Limusín proporciona canales más valoradas por su mayor rendimiento y puntuación de conformación, mientras que el genotipo Tudanca x Charolés presenta un mayor contenido en grasa de la carne que pudiera dar lugar a diferencias en aceptabilidad de la carne por parte de los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberti, P., Sañudo, C., Olleta, J.L., Panea, B., Lahoz, F. 2001. *ITEA 22 (extra): 511-513*.
- Lavín, P., Jaroso, R., Palencia, P., Mantecón, A.R. 2011. *ITEA en prensa*.
- Monserrat, L., Sánchez, L., Varela, A., Carballo, J.A., Oliete, B. 2001. *ITEA 22 (extra): 559-561*.
- Revilla, I., Vivar-Quintana, A.M. 2006. *Meat Science 73 (2): 189-195*.
- Warris, P. D. (2000). *Meat Science. An Introductory Text*, capítulo 3, 37-67. Ed. CABI Publishing, Wallingford (United Kingdom).

Agradecimientos: Trabajo realizado en el desarrollo del Convenio entre la Fundación Botín y el CSIC (2010) para el estudio y desarrollo de un sistema de producción y comercialización de carne de vacuno en el valle del Nansa y Peñarrubia. Agradecimiento a Rubén Plano de Semark AC Group, S.A., por la colaboración en la realización de este trabajo.

CARCASS AND MEAT QUALITY OF VEAL CALVES: A COMPARISON OF LIMOUSIN AND TUDANCA X CHAROLES GENOTYPES

ABSTRACT. The aim was to compare carcass and meat quality of two calves genotypes (Limousin and Tudanco x Charoles). The calves were under grazing and natural rearing conditions and supplemented with concentrates until slaughter at 6-8 months of age. An higher carcass weight and carcass yield of Limousin animals and a higher fat content of meat in the genotype Tudanca x Charoles were found. Carcass morphological conformation showed higher values in calves of Limousin genotype. The meat L* and b* values were higher and the meat b* value was lower for Limousin calves. Not relevant differences in meat yield were evidenced.

Keywords: carcass, meat quality, veal, genotypes.

EFFECTO DE LA EDAD DE CASTRACIÓN Y SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD DE LA CARNE Y LA CANAL EN TERNEROS CEBADOS INTENSIVAMENTE

Martí, S., Realini, C.E., Bach, A., Perez-Juan, M. y Devant, M.

1. Grupo de Alimentación, Manejo y Bienestar Animal, Barcelona, España.

IRTA, Barcelona, Spain. Sonia.marti@irta.cat

2. ICREA, Barcelona, Spain.

INTRODUCCIÓN

La castración tras la pubertad de terneros Holstein mejora la calidad de carne y canal (Mach et al., 2009). Sin embargo, la castración a estas edades es más dolorosa y laboriosa de realizar que en animales jóvenes (Knight et al., 1999). Castrar terneros a edades tempranas podría causar un sobreengrasamiento y un aumento de grasa intermuscular no deseado, además de verse reducido el potencial de crecimiento que tienen estos animales antes de la pubertad. El objetivo de este estudio fue encontrar el punto óptimo de sacrificio de terneros cebados intensivamente según la edad de castración considerando los parámetros productivos y la calidad de canal y de carne.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ciento veinte terneros Holstein de 97 ± 2.4 días de edad fueron alojados en 6 corrales. Los tratamientos seguían un diseño 3x3 factorial según la edad de castración y la edad de sacrificio. En dos corrales se alojaron machos enteros (ENT, 116 ± 2.2 kg), en otros dos corrales, terneros castrados a los 8 meses de edad (CAS8, 117 ± 2.2 kg) y en otros dos corrales terneros castrados a los 3 meses de edad (CAS3, 115 ± 2.1 kg). De cada corral se sacrificaron un tercio de los animales a diferentes edades: 10, 12 y 14 meses de edad. Los animales fueron alimentados con concentrado (40% maíz, 21% cebada, 15% tercerillas, 14.3% harina de soja, 5% cascarilla de soja, 2.6% aceite de palma, 1.6% carbonato cálcico, 0.3% sal, 0.2% premix; 12.8% PB, 4.7% GB, 14.7% FND, 4.0% cenizas, 0.6% Ca, 0.3% P, 0.3% Cl, 0.1% Na; sobre MS) con dispensadores automáticos y paja de cebada (3.5% PB, 1.6% EE, 70.9% FND, y 6.1% cenizas; sobre MS), ambos *ad libitum*. El peso vivo de los animales fue registrado cada 15 días hasta el momento del sacrificio.

A los 10, 12 y 14 meses de edad, los animales fueron sacrificados y el peso de la canal, conformación y engrasamiento fueron registrados (Regulación EU N^o 1208/81 y 1026/91). Después de 24 horas, se seccionó una pieza que comprendía desde la 9^a hasta la 11^a costilla para la posterior disección de la costilla en grasa, músculo y hueso y la predicción de la composición de la canal. En el LM el pH y color fueron medidos y fue posteriormente diseccionado en 3 porciones de 2.5 cm para el posterior análisis de la textura instrumental (WBSF) al día 0 y 7 de maduración y el contenido en grasa intramuscular.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los datos productivos y en la calidad de la carne se observaron pocas interacciones entre la edad de castración y la edad de sacrificio. El PV final a los 14 meses (549 ± 5.4 kg) fue un 16.0% y un 19.1% superior ($P < 0.001$) que el PV final a los 12 y 10 meses de edad, respectivamente. El PV final en los animales ENT (489 ± 5.6 kg) fue mayor que en CAS8 y CAS3 (470 ± 5.6 kg y 459 ± 5.6 kg, respectivamente) debido a la propiedad anabólica de los andrógenos, especialmente la testosterona. La GMD de los animales CAS8 tendió ($P = 0.07$) a ser superior que los CAS3, tendencia ($P = 0.10$) también observada en el PV final.

De acuerdo con el PV final, el peso de la canal fue un 16% y un 19.9% superior ($P < 0.001$) en los animales sacrificados a los 14 meses respecto a los sacrificados a los 12 y 10 meses de edad, aunque el rendimiento de la canal no fue diferente entre los animales sacrificados a los 12 y 14 meses de edad (53.0 ± 0.2 % y 52.7 ± 0.19 %,

respectivamente). El rendimiento de la canal fue superior ($P < 0.01$) en los machos enteros que en los animales castrados independientemente de la edad de castración, estos resultados que coinciden a los descritos por Field et al. (1971) en los que indicaban que el rendimiento en los machos enteros es superior debido al menor contenido en grasa en la canal.

Los valores de WBSF entre los animales a día 0 de maduración disminuyeron con la edad de sacrificio ($P < 0.001$); la textura instrumental de los animales de mayor edad fue menor que los animales más jóvenes. Hedrick et al. (1969) and Gullett et al. (1996), al contrario de los datos del presente estudio, indicaron que la edad tenía un efecto adverso en la terneza, seguramente debido a que los animales que estudiaron eran sacrificados a edades muy superiores a las del presente estudio. Aún así, estas diferencias en los valores WBSF desaparecieron después de 7 días de maduración. Los animales ENT, de acuerdo con la literatura (Purchas et al. 2002 y Mach et al. 2009), tuvieron valores de terneza mayores que los animales castrados; estos autores asociaron los valores bajos de terneza en los animales castrados a menor incidencia de pH altos, al mayor índice de fragmentación fibrilar y mayor contenido de grasa intramuscular. En el presente estudio se observó una tendencia ($P = 0.06$) entre edad de sacrificio y edad de castración en la grasa intramuscular. A pesar que la castración incrementó el contenido en grasa intramuscular (Morgan et al., 1993; Knight et al., 1999; Mach et al., 2009) y que la grasa intramuscular incrementó con la edad de sacrificio (Hedrick et al., 1969), los CAS8 a los 10 meses de edad tuvieron un porcentaje de grasa intramuscular similar a los ENT.

Se observó una interacción entre edad de sacrificio y edad de castración ($P = 0.01$) en el porcentaje de grasa subcutánea. El porcentaje de esta grasa subcutánea incrementó entre los 10 (ENT: 3.7 ± 0.75 %; CAS8: 5.7 ± 0.75 %; CAS3: 7.6 ± 0.75 %) y 12 meses (ENT: 8.3 ± 0.75 %; CAS8: 10.9 ± 0.75 %; CAS3: 13.2 ± 0.75 %) de edad para todos los animales y disminuyó a los 14 meses (ENT: 7.0 ± 0.75 %; CAS8: 9.7 ± 0.75 %; CAS3: 7.5 ± 0.75 %), siendo superior en porcentaje en los animales castrados, sin embargo a los 14 meses el porcentaje de grasa subcutánea fue similar entre los ENT y los CAS3. En la grasa intermuscular también se observó una tendencia ($P = 0.07$) entre la edad de sacrificio y la edad de castración; los animales CAS8 incrementaron su proporción de grasa intermuscular de forma lineal a medida que aumentaba la edad de sacrificio (10: 8.8 ± 0.68 %; 12: 10.4 ± 0.68 %; 14: 14.0 ± 0.68 %); en cambio, los animales ENT y los CAS no vieron incrementado su porcentaje en grasa intermuscular hasta los 12 meses de edad siendo el incremento muy superior en los animales CAS3 que en los ENT (57.6% vs 36.4%). A los 12 meses de edad los animales castrados a los 8 meses alcanzaron los mismos niveles de porcentaje de grasa intermuscular que los CAS3. En el presente estudio no se observaron diferencias en la proporción de músculo entre los 12 y 14 meses de edad (53.0 ± 0.54 % y 52.8 ± 0.54 %), siendo ésta proporción superior a los 10 meses (56.9 ± 0.56 %); aún así, la proporción de músculo en los machos enteros fue siempre superior ($P < 0.001$) a los animales castrados.

La castración y la edad de sacrificio son dos factores con marcado efecto en los parámetros productivos y en la calidad de canal y carne independientemente el uno del otro. Sólo en el caso de la grasa subcutánea, intermuscular e intramuscular existe una interacción entre la edad de castración y la edad de sacrificio. A partir del presente estudio se disponen de datos productivos (consumos y quilos canal) y de calidad (pH, terneza, color, cobertura e infiltración grasa) que son la base para decidir cuál es el momento óptimo de castración y de sacrificio en función de nuestros objetivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Berg, R.T. & Butterfield, R.M. 1968. J. Anim. Sci. 27:611-619.
- Field, R.A. 1971. J. Anim. Sci. 32: 849-858.
- Gullett, E.A., Battenham, S. & Hore, T. 1996. Food Qua. I Pref. 7:37-45.
- Hedrick, H.B., Thompson, G.B & Krause, G.F. 1969. J. Anim. Sci. 29:687-694.
- Knight, T.W., Cosgrove, G.P., Lambert, M.G. & Death, A.F. 1999. N.Z.J. Ag. Res. 42:269-277.
- Mach, N., Bach, A., Realini, C.E., Font I Furnols, M., Velarde,

A. & Devant. M. 2009. Meat Sci. 81:329-334. • Purchas, R.W., Burnham, D.L. & Morris, S.T. 2002. J. Anim. Sci. 80:3211-3221.

EFFECT OF SLAUGHTER AGE AND CASTRATION AGE ON MEAT QUALITY AND CARCASS IN HIGH-CONCENTRATE DIET CALVES

ABSTRACT. The aim of this study was to evaluate the effect of the castration age and slaughter age on performance and meat quality of high-concentrate diet Holstein calves. 124 Holstein calves followed a 3x3 factorial design arrangement of treatments: castration age (intact bulls (INT), animals castrated at 8 month of age (CAS8) and animals castrated at 3 month of age (CAS3)); and animals slaughtered serially at different ages (10, 12 and 14 month of age). The BW and intake were recorded every 15 days and daily, respectively. After slaughtered, the 9-10-11th rib section was removed to determine physically separable bone, lean and fat. Muscle pH and color were measured in LM. Also WBSF and intramuscular fat was evaluated in the LM. Castration reduced growth, improved carcass fat cover, marbling, tenderness and meat pH. As slaughter age increased, feed efficiency was reduced, carcass weight and fat cover, tenderness, and marbling improved. Only an interaction between castration age and slaughter age was found in separable percentage of subcutaneous fat, intermuscular fat, and intramuscular fat. Castration and slaughter age are two factors that affect performance and meat quality independently from each other with the exception of subcutaneous, intermuscular and intramuscular fat percentages.

Keywords: *castration, slaughter age, beef, carcass composition*

CANALES DE LA RAZA CACHENA CON ANIMALES DE EDAD INFERIOR A 12 MESES

Araújo, A.¹, Cerqueira, J.O.L.¹, Dantas, R.², Pires, P.³ y Araújo, J.P.¹

¹Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo (IPVC), Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. Email: pedropi@esa.ipvvc.pt.

²Associação de Criadores de Bovinos de Raça Cachena, Arcos de Valdevez, Portugal.

³Escola Superior de Tecnologia e Gestão do IPVC, Viana do Castelo, Portugal.

INTRODUCCIÓN

La raza Cachena presenta como aptitud la producción de carne. Estos animales son criados en un sistema de pastoreo de montaña en altitud por encima de 600 m. Se adapta perfectamente a las condiciones edafológicas y climáticas, cuya principal característica es el libre pastoreo. Sus efectivos se localizan mayoritariamente en el Noroeste de Portugal, en los distritos de Braga y Viana do Castelo. La raza se registró inicialmente en 1994 como la raza subtipo Barrosã y en 1998 ha sido clasificada como raza autóctona portuguesa.

El objetivo del presente estudio es conocer el desglose de la producción de canales con la raza Cachena y su distribución por categorías comerciales con enfoque en la ternera blanca (V) y ternera (Z).

MATERIAL Y METODOS

Se dispuso del censo de sacrificios nacional de los correspondientes a la raza Cachena de los años 2008 y 2009, facilitados por el Instituto de Financiación de Agricultura y Pescas (IFAP) del Ministerio da Agricultura, Desarrollo Rural y Pescas. Los datos han correspondido al censo de cabezas sacrificadas dentro del territorio portugués, su peso canal, edad de sacrificio y categoría comercial. Las canales fueron clasificadas según el Reg n.º 700/2007, que divide en dos categorías los animales jóvenes (Clasificación V y Z): categoría V (ternera blanca): bovinos con edad igual o inferior a ocho meses y categoría Z (ternera): bovinos con edad superior a ocho meses pero igual o inferior a doce meses. Además se han incluido los datos de canales de animales adultos (categoría, peso canal y edad de sacrificio) y de animales jóvenes (clasificación LA/LO) recogida en Decreto Ley 168/1998 y portaria n.º 363/2001. Además se ha utilizado el Reg CE n.º 1183/2006 de clasificación de las canales de vacuno pesado.

Se determinaron los efectos del sexo de los animales, en cada una de las categorías de animales con menos de 12 meses, en el peso de la canal y edad de sacrificio. Se realizó un análisis de varianza utilizando el programa "SPSS, versión 15.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción por categoría comercial queda reflejada en la Tabla 1. En términos generales los pesos de canales son reducidos. Los animales jóvenes con más de 6 meses (LO) constituyen conjuntamente con los machos no castrados con menos de 2 años (A), los terneros blancos (V) y los terneros (Z), las categorías más importantes en términos de sacrificio, indicando el sacrificio predominante de animales jóvenes. La reducida cifra de las vacas puede indicar la longevidad productiva en esta raza. Después del 1 de julio de 2008, se aplicó a la carne procedente de bovinos de edad igual o inferior a doce meses sacrificados el reg 700/2007, que en el caso de la categoría V incluye la LA y parte de clasificados con LO. Con respecto al peso canal, los de ternera blanca (V) se cifran en 75,2 kg y ternera (Z) en los 98,6 kg.

El desglose por meses de los sacrificios queda reflejado en la Figura 1. Se puede observar que hay sacrificios en todos los meses del año, pero con diferencias. En la área de producción de la

Cachena, la inseminación artificial no es una práctica común, adoptándose un sistema extensivo de producción con monta natural, determinando alguna estacionalidad. En la mayoría de las explotaciones agrícolas, la temporada de reproducción es discontinua (Leite y Dantas, 2000). Además la demanda de carne en temporadas festivas como el verano (la llegada de emigrantes) y en Navidad, aumenta el número de sacrificios durante estos meses. La producción de animales con menos de 12 meses corresponde a ternera blanca (V) con cerca de 75,2 kg/canal, con diferencias entre sexos ($P < 0,001$) y una edad de 5,4 meses y a la ternera (Z) con 98,6 kg y una edad de 9,4 meses, con diferencias entre sexos ($P < 0,01$) (Tabla 2). Ambos son producidos con amamantamiento de las progenitoras y en pasto hasta los 4-6 meses con una eventual administración de paja o heno y suplemento de maíz (harina) en los últimos tres meses de vida en finalización (Gonçalves, 2002). Con respecto al género se puede verificar que los machos, en las dos categorías, alcanzan un peso superior a las hembras, pero en la categoría V la diferencia de edad es superior ($P < 0,05$) en los machos. Comparando los pesos medios de las canales en esta raza ($V=75$ kg y $Z=99$ kg) con el valor medio general de animales en la misma categoría ($V=103$ kg y $Z=163$ kg) en Portugal (GPPAA, 2007), se constata los valores inferiores obtenidos en este estudio. Se puede constatar además en ambas las categorías "V" y "Z", un mayor porcentaje de machos sacrificados con respecto a las hembras, indicando que éstas son utilizadas en fases posteriores de cría.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- CE Reg 1183/2006. Modelo comunitario de clasificación de las canales de vacuno pesado.
CE Reg 700/2007. Comercialización de la carne procedente de bovinos de edad igual o inferior a doce meses.
Gonçalves, A.L., 2002. Caracterização dos sistemas produtivos da raça bovina Cachena. Relatório final de estágio. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo.
GPPAA, 2007. Anuário Pecuário 2006/2007. Ed. GPP (Gabinete de Planeamento e Políticas) MAPF/GPP, Lisboa.
Leite, J.V. y Dantas, R.V., 2000. Raza Cachena. In Catálogo de raças autóctones de Castela e leão (Espanha) – Região Norte de Portugal. 1- Espécies bovinas e equina, pp. 91-102.
Portaria nº 363/2001, de 20 de Março, que define as normas de classificação de carcaças dos bovinos leves abatidos no território nacional. (D.R. 09/04/01).

Agradecimientos: Al Ing. Pedro Vieira del Instituto de Financiación de Agricultura y Pescas (IFAP) por la disponibilidad de datos de sacrificio de canales de raza Cachena.

MEAT PRODUCTION CACHENA BREED WITH ANIMALS LESS THAN 12 MONTHS

ABSTRACT. Cachena cattle breed present in the mountain areas of the northwest of Portugal is a breed of high hardiness and small size. For the purpose of this study, 989 carcasses of Cachena breed slaughtered in 2007 and 2008 used and classified in A. uncastrated young male animals of less than two years of age; B. other uncastrated male animals; C. castrated male animals; D. female animals that have calved; E. other female animals, according to the (EC) Reg 183/2006 and in veal (V) and Beef (Z) (EC) Reg 700/2007. The most important categories in terms of production are young animals over 6 months (LO), uncastrated young male, veal and beef, corresponding to young animals. The effect of sex in the carcass weight and age of the veal and beef were evaluated with a ANOVA using SPSS version 15. Carcass weight was $75,2 \pm 16,15$ kg, for a slaughter age of $5,35 \pm 1,14$ months for Veal (V) and $98,6 \pm 21,26$ kg for a slaughter age of $9,4 \pm 1,26$ months for beef (Z) categories. In both categories males have higher weights when compared to females. Females are slaughtered in a smaller number for raising heifer purposes. The carcasses present light weights due to the reduced breed size and extensive production system in mountain areas.

Keywords: Cachena breed, carcass weight, slaughter age, sex.

Tabla 1: Peso canal y edad de sacrificio de la raza Cachena por categoría.

Categoría ¹	Nº	Peso canal (kg)			Edad sacrificio (meses)		
		Media ± Des. Típ.	Min	Max	Media ± Des. Típ.	Min	Max
A	201	129,3±28,54	67,2	196,8	16,9±2,82	12,0	23,0
B	35	192,9±56,77	29,8	285,0	38,3±18,53	24,0	91,0
C	20	170,2±44,84	125,0	294,0	23,2±9,23	15,0	46,0
D	26	173,1±37,29	130,0	254,0	119,8±86,26	24,0	311,0
E	13	138,5±44,73	89,0	203,0	19,5±5,06	12,0	29,0
LA	26	61,5±15,81	35,0	90,0	3,3±1,40	1,0	5,0
LO	364	122,3±25,16	58,0	195,0	14,2±3,30	6,0	23,0
V	173	75,2±16,15	38,0	139,0	5,4±1,40	3,0	8,0
Z	131	98,6±21,26	68,0	163,0	9,4±1,26	8,0	12,0
Total	989	118,4±45,55	29,8	294,0	16,2±23,10	1,0	311,0

¹Categoría de canales. A: Machos jóvenes sin castrar de menos de dos años; B: Otros machos sin castrar; C: Machos castrados; D: Hembras que hayan parido; E: Otras hembras; LA: Animales jóvenes menores de 6 meses; LO: Animales jóvenes con más de 6 meses; V: bovinos con edad igual o inferior a ocho meses; Z: bovinos con edad superior a ocho meses pero igual o inferior a doce meses.

Tabla 2: Peso canal y edad de sacrificio por sexo de las categorías "V" y "Z" en la raza Cachena.

Categoría	Sexo	Nº	Peso canal (kg)			Edad sacrificio (meses)		
			Media ± Des. Típ.	Min	Max	Media ± Des. Típ.	Min	Max
V	Machos	129	77,6±16,22	41,0	139,0	5,43±1,39	3,0	8,0
	Hembras	44	68,2±13,92	38,0	100,0	5,14±1,41	3,0	8,0
	Sig.		***			NS		
	Total	173	75,2±16,15	38,00	139,0	5,35±1,40	3,0	8,0
Z	Machos	116	100,5±21,48	68,0	163,0	9,5±1,27	8,0	12,0
	Hembras	15	84,5±12,75	71,7	119,0	8,8±1,01	8,0	11,0
	Sig.		**			*		
	Total	131	98,6±21,26	68,0	163,0	9,4±1,26	8,0	12,0

Sig: Nivel de significación *** P<0.001; ** P<0.01; * P<0.05; NS No significativo.

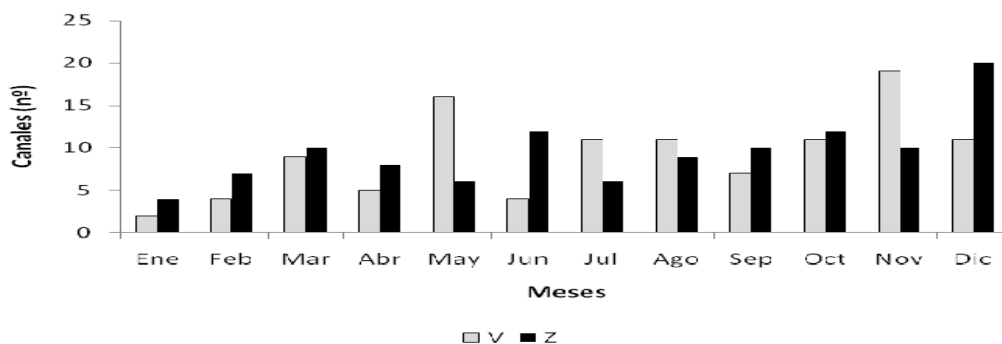


Figura 1: Desglose mensual del número de canales de raza Cachena con edad inferior a 12 meses.

EVOLUCIÓN DEL COLOR DURANTE EL ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN DE LOS MÚSCULOS *LONGISSIMUS DORSI* Y *SERRATUS VENTRALIS* DE CERDOS IBÉRICOS CRIADOS BAJO DIFERENTES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN.

Tejerina, D.¹ y García-Torres, S.¹

¹Centro de Investigación "La Orden-Valdealsequera". Dpto. Producción Animal. Junta de Extremadura. 06187 Guadajira (Badajoz) david.tejerina@juntaextremadura.net

INTRODUCCIÓN

El sector del porcino ibérico tiene una gran importancia económica dentro de la producción ganadera española, con más de 2.5 millones de cabezas sacrificadas en el último año (MARM, 2009). Además, los productos curados del cerdo ibérico son unos de los más apreciados a nivel mundial (Ventanas *et al.*, 1999), aunque cada vez es mayor el consumo en fresco de piezas cárnicas como el lomo (*Longissimus dorsi*) (Ramírez y Cava, 2007) o la presa (*Serratus ventralis*) (Morcuende *et al.*, 2003). La *Montanera* es uno de los principales sistemas de producción del cerdo ibérico, no solo por la calidad final de los productos que se obtienen, sino por las implicaciones éticas y medioambientales que conlleva. Pero no siempre es posible producir cerdos ibéricos bajo este sistema productivo, por los que en la última Norma de calidad (RD 1469/2007), se definen otras estrategias de producción alternativas, como el *Recebo* o el *Intensivo* (BOE, 2007), con detrimento de su calidad final. Pero, en cualquier caso, la calidad sensorial está definida por multitud de parámetros físico-químicos, siendo el color uno de los más valorados por los consumidores en el momento de la compra (Ruíz *et al.*, 2005). Por tanto, el objetivo de este estudio es caracterizar los parámetros instrumentales de color (L^* , a^* , b^*) de los músculos *L. dorsi* y *S. ventralis* de cerdos ibéricos criados en tres sistemas de producción (*Montanera*, *Recebo* e *Intensivo*), durante su almacenamiento en refrigeración (5 días).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio, se seleccionaron 90 cerdos ibéricos puros, castrados, variedad *Retinta* de la Línea Valdealsequera (Junta de Extremadura, Badajoz, España), con un peso inicial de 90 ± 5 kg, que fueron distribuidos aleatoriamente en tres lotes para completar la fase final de engorde bajo tres sistemas de producción:

- *Montanera* (n=30), alimentación basada en el consumo *ad libitum* de los recursos naturales de dehesa (bellota y pasto) hasta alcanzar un peso final de 150 ± 10 kg y con libertad total de movimiento.
- *Recebo* (n=30), alimentación basada en el consumo *ad libitum* de bellota y pasto hasta reponer ≈ 30 kg, para posteriormente terminar la fase de engorde (hasta 150 ± 10 kg) con el consumo de pienso comercial y libertad total de movimiento en la dehesa.
- *Intensivo* (n=30), alimentación basada en el consumo de piensos comerciales (4kg/animal/día), hasta alcanzar los 150 ± 10 kg, y limitación de movimiento en parcelas de engorde.

Tras el sacrificio y eviscerado, se llevó a cabo el despiece de las canales, para obtener las piezas objeto de estudio (*L.dorsi* y *S.ventralis*).

Ambos músculos fueron almacenados cubiertas con film plástico permeable al O_2 y mantenidas a $+4^\circ C$ durante 5 días (d_0 , d_1 , d_2 , d_3 y d_4), para su maduración. Las medidas de color instrumental, fueron tomadas todos los días, tras un proceso de *blooming* (1h.), mediante un colorímetro Minolta CR-300 (Minolta Camera, Osaka, Japan), siguiendo las recomendaciones CIE-Lab de la American Meat Science Association (Hunt *et al.*, 1991). Los resultados fueron expresados a través de las coordenadas de color: L^* (luminosidad), a^* (índice de rojo) y b^* (índice de amarillo). La intensidad de color (Chroma, C) fue calculada mediante la siguiente fórmula: $C = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$.

Cada medida fue expresada como la media de tres repeticiones tomadas en diferentes puntos al azar. El análisis estadístico fue llevado a cabo mediante el programa SPSS.PC+ (2005), utilizando el test ANOVA de una vía y el test Tukey HSD, para comparar los valores de cada grupo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestran los resultados correspondientes al estudio evolutivo de color del músculo *L. dorsi* y *S. ventralis* en cada uno de los sistemas productivos utilizados. Se puede observar que en *Montanera*, tanto la luminosidad (L^*), el índice de rojo (a^*) el índice de amarillo (b^*), como la intensidad de color (C^*) del músculo *L. dorsi* fueron superiores a d_2 de maduración ($p < 0.001$) y que tienden a disminuir durante su almacenamiento en refrigeración (+4C). Un comportamiento similar fue observado también en los valores de luminosidad (L^*) de las muestras de animales criados en régimen *Intensivo* y *Recebo* ($p < 0.001$ y $p < 0.05$, respectivamente), índice de rojo (a^*) ($p < 0.01$) e intensidad de color (C^*) ($p < 0.05$). Los resultados correspondientes al estudio evolutivo del color del músculo *S. ventralis* (Tabla 1) también mostraron una tendencia similar a lo observado en *L. dorsi*.

Esto está de acuerdo con lo observado en estudios previos sobre la evolución del color en diferentes líneas de cerdo Ibérico criado en *Montanera* (Estévez *et al.*, 2003). Entre las 24-48h. después del sacrificio, la estabilidad del color es mayor, pero posteriormente el oxígeno difunde hacia capas mas internas. Esto, unido a las reacciones de oxidación lipídica (Monahan *et al.*, 1994) favorece la formación de Metamioglobina en la superficie del músculo (Kannan *et al.*, 2001) contribuyendo al proceso de decoloración de la carne. Además, durante el almacenamiento en refrigeración se produce un descenso del contenido en agua de la carne, como consecuencia de los procesos de drip-loss y la desnaturalización proteica que favorece la liberación del agua retenida (datos no mostrados), lo cual está muy relacionado con la disminución de la luminosidad (L^*) (Lawrie, 1998).

Tabla 1. Efecto del tiempo de conservación (d_0 - d_5) sobre el color instrumental (L^* , luminosidad; a^* , índice de rojo, b^* , índice de amarillo, C^* , intensidad de color) de los músculos *L. dorsi* y *S. ventralis* de cerdos Ibéricos puros criados en diferentes sistemas de producción (*Montanera*, *Recebo* e *Intensivo*).

	Longissimus dorsi						Serratus ventralis					
	d_0	d_1	d_2	d_3	d_4	EEM Sig.	d_0	d_1	d_2	d_3	d_4	EEM Sig.
Montanera												
L^*	40,5a	44,8ab	46,5c	45,3bc	43,6b	0,3 ***	39,1a	41,2bc	42,9c	42,1c	39,9ab	0,23 ***
a^*	11,7a	13,4b	15,2c	14,1bc	12,6ab	0,29 ***	20,9c	20,1bc	18,9b	17,1a	17,2a	0,17 ***
b^*	0,8a	4,3b	6,6c	6,5c	4,9b	0,19 ***	4,4a	7,1b	8,8c	8,5c	6,1b	0,16 ***
C^*	11,7a	14,1ab	16,6b	15,5ab	13,6a	0,21 ***	21,3b	21,3b	20,9ab	19,1a	18,3a	0,24 ***
Intensivo												
L^*	38,9a	41,5b	43,9c	42,6bc	41,7b	0,25 ***	37,1a	39,5bc	40,5c	39,5bc	38,1ab	0,21 ***
a^*	10,4a	12,3b	12,6b	12,3b	11,4ab	4,79 **	20,1c	19,2bc	17,9ab	17,9ab	17,6a	0,17 ***
b^*	0,3a	3,9b	4,7b	4,4b	3,9b	0,14 ***	3,9a	6,7c	6,8c	6,4bc	5,5b	0,14 ***
C^*	10,4a	12,9b	13,4b	13,1b	12,1ab	0,18 *	20,5b	20,3b	19,1ab	18,9ab	18,4a	0,18 ***
Recebo												
L^*	40,6a	41,3ab	44,3b	43,3ab	42,9ab	0,42 *	37,9a	38,6a	40,6a	41,3a	38,5a	0,44 **
a^*	12,4a	13,5b	13,8b	12,9ab	12,1a	0,31 **	20,6c	18,9bc	16,9a	18,3ab	19,5bc	0,25 ***
b^*	1,1a	3,3b	5,1c	4,4bc	4,3bc	0,22 ***	4,1a	6,2ab	8,2b	6,9ab	5,6ab	0,41 *
C^*	12,5a	13,9b	13,8b	13,6b	12,8a	0,19 *	20,9b	19,9ab	18,8a	19,6ab	20,3b	0,23 *

a, b, c: medias con la misma letra indican grupos homogéneos para $p < 0.05$, de acuerdo con el Test de Tukey HSD. EEM, error estándar de la media. (ns, no significativo, *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$)

La presencia de un mayor contenido en antioxidantes naturales va a retrasar los procesos de degradación del color, ya que evitan las reacciones de oxidación lipídica y proteica, ya que favorece la estabilidad de los pigmentos hemínicos y la formación de oximioglobina, en presencia de O_2 , responsables del color rojo brillante del músculo (Morrissey *et al.*, 1998). Esto es importante desde el punto de vista del consumidor, ya que según Brewer *et al.* (1998) tienen preferencia por la carne con color rojo brillante, siendo además un indicado de frescura.

En conclusión, y teniendo en cuenta las exigencias del consumidor respecto al color de la carne, nuestros resultados muestran que ambos músculos (*L.dorsi* y *S.ventralis*) presentan mayor luminosidad y mayor índice de rojo a las 48 h. después del sacrificio y que durante el almacenamiento en refrigeración se favorece la decoloración de la carne, en los tres sistemas de producción estudiados (*Montanera*, *Recebo* e *Intensivo*).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOE 2007. RD 1469/2007 de 2 de noviembre. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*.
- Brewer, M, et al. 1998. *Journal of Muscle Foods*, 9, 173–183.
- Estévez, M. et al. 2003. *Meat Science*, 65, 1139-1146.
- Hunt, M.C., 1991. In *Proceedings 44th annual reciprocal meat conference*, 9–12 July 1991.
- Kannan, G., 2001. *Small Ruminant Research*, 42,67–75.
- Lawrie, R. A. 1998. In *Meat science (6th ed.)*. Cambridge: Woodhead Publishing.
- MARM, 2009. *Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino*. Anuarios de Estadística.
- Monahan, F. J., 1994. *Meat Science*, 37,205–215.
- Morcuende, D., 2003. *Meat Science*, 65, 1157-1164.
- Morrissey, P. A., 1998. *Meat Science*, 49,S73–S86.
- Ruíz, J. & López-Bote, C.J. 2005. *XXI Curso de especialización FEDNA*. Madrid, 7 y 8 de noviembre.
- SPSS.PC+. 2005. *SPSS Trends 14.0*. SPSS Inc. Chicago. EEUU.
- Ventanas, J., 1999. *Cárnica 2000*. Marzo: 55-59.

Agradecimientos: Este trabajo se encuadra en el proyecto RTA03-019 financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias y Alimentarias (INIA), el proyecto Jun07-564 (FEDER-Junta de Extremadura) y las ayudas FEDER-Junta de Extremadura (Ref. GR10078) al Grupo Tradinnoval (AGA016).

EFFECT OF REFRIGERATED STORAGE ON INSTRUMENTAL COLOR OF *LONGISSIMUS DORSI* AND *SERRATUS VENTRALIS* MUSCLE OF IBERIAN PIGS REARED UNDER DIFFERENT PRODUCTION SYSTEMS.

ABSTRACT

Meat color is one of the sensory attributes most valued by the consumer at the time of purchase. Therefore, in this assay we studied the effect of refrigerated storage during 5 days on parameters of instrumental color (L^* , lightness; a^* , redness, b^* , yellowness, C^* , color intensity) of *L.dorsi* and *S.ventralis* muscles from Iberian pigs reared under three different production system (*Montanera*, *Recebo* and *Intensivo*). The results shown que L^* -value, CIE a^* - value and color intensity (C^*) were higher at d_2 (48h *post-mortem*) and decreasing during refrigerated storage (d_5) in *L. dorsi* and *S.ventralis* under *Montanera* system. Meat from *Recebo* and *Intensive* animal shown a similar trend. In conclusion, according our results, greater color stability is achieved at 48h *post-mortem*.

Keywords: color, meat, Iberian pig, production system, refrigerated storage.

RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS Y CALIDAD DE LA CANAL DE HEMBRAS, MACHOS CASTRADOS QUIRURGICAMENTE Y MACHOS INMUNOCASTRADOS PROCEDENTES DE LÍNEAS PATERNAS DUROC Y PIETRAIN

Morales, J.I.¹, Serrano, M.P.¹, Cámara, L.¹, Berrocoso, J.D.¹, López, J.P.² y Mateos, G.G.¹.

¹Departamento de Producción Animal, UPM. Ciudad Universitaria, s/n. 28040, Madrid.

gonzalo.gmateos@upm.es.

²COPISO S.A. Avenida de Valladolid, 105. 42005, Soria.

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente la castración quirúrgica ha sido la práctica más habitual en la producción de cerdo blanco destinado a la industria de productos cárnicos curados. La castración quirúrgica conlleva un empeoramiento de los rendimientos productivos y penaliza el bienestar animal. Como alternativa ha surgido la inmunización de los cerdos contra el factor de liberación de la gonadotropina (GnRH) (Fàbrega et al., 2010). La inmunocastración suprime la función testicular (Zamaratskaia et al., 2008) y reduce la producción de androsterona (Dunshea et al., 2001) y escatol (Matthews et al., 2000) así como la agresividad (Jaros et al., 2005). Por tanto, la inmunocastración puede ser una alternativa a la castración física en situaciones comerciales. Por otro lado, para la obtención de productos curados se precisan canales con más grasa y mayor proporción de partes nobles que para productos frescos, por lo que se utilizan estrategias como aumentar el peso al sacrificio o el cruce con líneas paternas específicas. El objetivo de este estudio fue evaluar el rendimiento productivo y la calidad de la canal de hembras enteras (HE), machos castrados (MC) y machos inmunocastrados (MI) procedentes de genéticas paternas Duroc (DU) y Pietrain (PI) con un peso al sacrificio de 134 kg.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 300 cerdos (67 ± 2 días de edad y $23,5 \pm 1,38$ kg de PV) procedentes del cruce de hembras Landrace x Large White con machos DU o PI. De estos animales, 100 fueron HE, 100 se castraron quirúrgicamente y 100 fueron MI. Los MC se castraron con 4 ± 1 días de edad, mientras que la inmunización activa contra GnRH se llevo a cabo con Improvac (Pfizer Animal Health, Madrid, España) a los 87 (20 días en prueba) y 137 (70 días en prueba y 34 días antes del sacrificio) días de edad. Los cerdos se alojaron en cuadras en grupos de 10 (unidad experimental), distribuyéndose al inicio de la prueba en función del peso vivo, de forma que cada tratamiento tuviera 5 réplicas. Todos los animales fueron pesados individualmente y el consumo de pienso por cuadra se determinó a 0, 20, 41, 70, 90 y 104 días de prueba. Estos datos se utilizaron para calcular la GMD, el CMD y el IC por réplica para cada periodo y para el global de la prueba. Todos los cerdos se sacrificaron el mismo día (104 días de ensayo). A los 90 y 104 días de prueba se midió el espesor de grasa dorsal a la altura de la última costilla a nivel P₂ (65 mm del punto medio de la columna vertebral) utilizando un escáner de ultrasonidos (Agroscan ALR 35, Novoco, Quebec, Canadá). El rendimiento de la canal se calculó en base al peso en granja (26 horas antes del sacrificio) y el peso de la canal en caliente. A las dos horas post-sacrificio, se midió la grasa dorsal a nivel P₂ (GD) entre la tercera y cuarta últimas costillas por la línea media de la canal. Los resultados se analizaron mediante el procedimiento MIXED de SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1990) para diseños al azar. El modelo incluyó el sexo (HE, MC y MI), la línea genética paterna (DU y PI) y su interacción. Los datos se presentan como medias corregidas por mínimos cuadrados y las medias de los tratamientos se compararon con el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final de la prueba, los MC y los MI presentaron mayor GMD ($P < 0,001$) que las HE; mientras que el CMD fue superior para los MC ($P < 0,001$) que para HE y MI. Por tanto, el IC fue mejor ($P < 0,001$) para los MI que para los MC, con las HE en una posición intermedia (Tabla 1).

Tabla 1. Influencia de la inmunocastración, el sexo (S) y la línea genética paterna (GP) sobre los rendimientos productivos, el rendimiento de la canal y el espesor de grasa dorsal

Parámetro	Sexo			Genética paterna		EEM ¹	Probabilidad ²		
	HE	MC	MI ³	Duroc	Pietrain		S	GP	S*GP
PV inicial, kg	24,3 ^a	23,2 ^b	23,0 ^b	24,4	22,6	0,083	0,001	0,001	0,001
PV final, kg	130,4 ^b	135,4 ^a	135,7 ^a	144,6	123,1	1,38	0,01	0,001	0,02
<i>Rendimientos productivos</i>									
Entre 67 y 87 días de edad (0 a 20 días en prueba)									
GMD, kg ⁴	0,96 ^{ab}	0,99 ^a	0,92 ^b	1,04	0,87	0,025	0,02	0,001	0,04
CMD, kg ⁵	1,47	1,50	1,39	1,56	1,34	0,097	ns	0,01	ns
IC ⁶	1,53	1,51	1,52	1,50	1,54	0,090	ns	ns	ns
Entre 87 y 137 días de edad (20 a 70 días en prueba)									
GMD, kg	1,07 ^b	1,13 ^a	1,08 ^b	1,19	1,00	0,017	0,002	0,001	0,07
CMD, kg	2,50 ^b	2,74 ^a	2,26 ^c	2,70	2,30	0,059	0,001	0,001	ns
IC	2,33 ^a	2,42 ^a	2,10 ^b	2,26	2,31	0,038	0,001	ns	ns
Entre 137 y 171 días de edad (70 a 104 días en prueba)									
GMD, kg	0,98 ^c	1,05 ^b	1,19 ^a	1,17	0,98	0,027	0,001	0,001	0,02
CMD, kg	2,67 ^b	3,00 ^a	3,07 ^a	3,16	2,66	0,058	0,001	0,001	0,08
IC	2,73 ^a	2,86 ^a	2,58 ^b	2,72	2,73	0,053	0,001	ns	0,04
Entre 67 y 171 días de edad (0 a 104 días en prueba)									
GMD, kg	1,02 ^b	1,08 ^a	1,08 ^a	1,16	0,97	0,013	0,001	0,001	ns
CMD, kg	2,35 ^b	2,59 ^a	2,36 ^b	2,63	2,23	0,041	0,001	0,001	ns
IC	2,31 ^b	2,40 ^a	2,17 ^c	2,28	2,31	0,029	0,001	ns	ns
<i>Rendimiento de la canal</i>									
Peso canal,									
kg	96,6 ^{ab}	98,4 ^a	95,5 ^b	104,2	89,5	0,93	0,014	0,001	0,003
Rendimiento,									
%	78,9 ^a	78,3 ^a	76,4 ^b	77,8	77,9	0,29	0,001	ns	ns
<i>Espesor de la grasa P₂, mm</i>									
90 días									
prueba ⁷	16,0 ^b	18,4 ^a	14,7 ^b	17,1	15,7	0,659	0,001	0,014	ns
104 días									
prueba ⁷	17,1	19,3	18,4	19,0	17,5	0,891	0,058	0,051	ns
Postmortem									
	26,7 ^b	28,6 ^a	26,1 ^b	27,3	27	0,559	0,001	ns	ns

¹Error estándar de la media con 5 réplicas por tratamiento. ²Probabilidad: ns: $P > 0,10$. ³Dosis de Improvac a los 87 y 137 días de edad. ⁴Ganancia media diaria. ⁵Consumo medio diario. ⁶Índice de conversión. ⁷Espesor de grasa dorsal a nivel P₂ medido por ultrasonidos.

Hasta el momento de la aplicación de la segunda dosis de Improvac (137 días de edad) la GMD de los MI fue inferior ($P < 0,05$) a la de los MC, pero estos se recuperaron y de 137 a 171 días de edad tuvieron mayor GMD y mejor IC ($P < 0,001$) que HE y MC. Al final de la prueba, el PV fue similar para MC y MI. La genética DU tuvo mayor GMD y CMD ($P < 0,001$) que la PI, de acuerdo con los resultados de Tibau et al. (1997), pero no se encontraron diferencias para el IC. En este ensayo se observó una interacción entre el sexo y la genética paterna para la GMD entre las dos dosis de Improvac; en este periodo, la inmunocastración tendió ($P = 0,07$) a reducir la GMD en PI pero no en DU (Tabla 1). Rydhmer et al. (2010) indicaron que la respuesta a la inmunocastración podría variar entre cruces dependiendo de la línea genética. El rendimiento de la canal de los MI fue inferior ($P < 0,001$) al de HE y MC, de acuerdo con los resultados de Gispert et al. (2010). Los MC tuvieron mayor ($P < 0,001$)

espesor de GD a los 90 y 104 días de prueba y postmortem que HE y MI. No hubo diferencias entre líneas genéticas en el rendimiento de la canal ni en la GD postmortem, pero el espesor de grasa dorsal fue mayor en DU que en PI a los 90 ($P < 0,001$) y 104 ($P = 0,058$) días en prueba. En conclusión en base a índices productivos, la inmunocastración es una buena alternativa a la castración física para la producción de canales pesadas destinadas a la industria de productos cárnicos curados pero para una correcta evaluación económica debe tenerse en cuenta el efecto sobre el rendimiento de la canal. Los cruces con DU son más recomendables para producir cerdos pesados para la industria de curados, donde se precisa una mayor cantidad de grasa, mientras que los cruces con PI podrían ser más adecuados para canales destinadas a la industria de productos frescos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Dunshea, F.R., C. Colantoni, Howard, K., McCauley, I., Jackson P., Long K. A., Lopaticki, S., Nugent, E. A., Simons, J.A., Walker, J. & Henessy, D.P. 2001. *J. Anim. Sci.* 79: 2524-2535. • Fàbrega, E., Velarde, A., Cros, J., Gispert, M., Suárez, P., Tibau, J. & Soler, J. 2010. *Livest. Sci.* 132: 53-59. • Gispert, M., Àngels Oliver, M., Velarde, A., Suarez, P., Pérez, J. & Font i Furnols, M. 2010. *Meat Science*, 85: 664-670. • Jaros, P., Bürgi, E., Stärk, K.D.C., Claus, R., Hennesy, D. & Thun, R. 2005. *Livest. Prod. Sci.* 92: 31- 38. • Matthews, R., Homer, D.B., Punter, P., Beague, M.P., Gispert, M., Kempster, A.J., Agerhem, H., Claudi-Magnussen, C., Fischer, K., Siret, F., Leask, H., Furnols M.F.I. & Bonneau M. 2000. *Meat Sci.* 54:271-283. • Rydhmer, L., Lundström, K. & Andersson, K. 2010. *Animal* 4, 965–972. • Statistical Analysis Systems Institute. 1990. • Tibau, J., Puigvert, X., Soler, J., Trilla, N., Diestre, A., Gispert, M., Fernandez, J. & Manteca, X. 1997. *Anaporc* 171: 74–91. • Zamaratskaia, G., Andersson, H.K., Chen, G., Andersson, K., Madej, A. & Lundström, K. 2008. *Reprod. Domestic Anim.* 43: 351-359.

PRODUCTIVE PERFORMANCE AND CARCASS QUALITY OF GILTS AND SURGICALLY AND IMMUNE-CASTRATED MALE PIGS FROM CROSSBREDS OF DUROC AND PIETRAIN SIRE LINES

ABSTRACT The influence of gender [intact females (IF), surgically castrated males (MC), and immunocastrated males (MI)] and terminal sire line [Duroc (DU) and Pietrain (PI)] on performance and carcass quality was studied in pigs slaughtered at 134 kg BW. There were 6 treatments arranged factorially with 3 genders and 2 sire lines. Each treatment was replicated 5 times and the experimental unit was a pen with 10 pigs of similar initial BW (23.5 kg). The CM were castrated at 4 ± 1 days of age and the MI pigs were immunized against GnRF at 87 and 137 days of age. Between the first and the second dose of Improvac, IF and MI had lower ($P < 0.01$) BW gain than CM. In the same period, ADFI was lower ($P < 0.001$) for MI than for IF and lower for both than for MC. In consequence, MI had better F:G ratio than IF and MC. In this trial, an interaction between sex and sire line was observed from 87 to 137 days of age, immunocastration tended ($P = 0,07$) to reduce ADG in the PI crossbreds but not in the DU crossbreds. From the second dose of Improvac to slaughter, MI recovered, and had better ($P < 0.001$) ADG and F:G than IF and CM. At the end of trial, CM and MI had higher ($P < 0.001$) BW gain than IF. Also, ADFI of MC was higher ($P < 0.001$) than that of IF and MI. In addition, MI were more efficient but had lower carcass yield than IF and MC ($P < 0.001$). Furthermore, MC had more backfat thickness than IF and MI. Crossbreds from DU sires had higher ($P < 0.001$) BW gain and postmortem backfat than crossbreds from PI. Therefore, MI and crossbreds from DU sires are preferred for the production of heavy pigs destined to the dry cured industry.

Keywords: Backfat thickness; Immunocastration; Productive performance; Sire line

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE PIEZAS CÁRNICAS DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DO TERUEL

Calvo¹, S., Rodríguez-Sánchez, J.A.¹ y Latorre, M.A.²

¹CITA. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

²Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Avda. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza malatorr@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Producir un cerdo destinado a la Denominación de Origen Protegida (DOP) Jamón de Teruel supone menores costes que producir un cerdo Ibérico, incluso en intensivo, pero mayores que producir un cerdo comercial. Estas diferencias se deben, en gran medida, a la diferente edad (10 vs 8 vs 6 meses para el Ibérico en intensivo, el de Teruel y el comercial, respectivamente) y peso (150 vs 125 vs 100 kg de peso vivo (PV), respectivamente) en el momento del sacrificio. Actualmente, los sobrecostes de producción de un cerdo destinado a Jamón DOP Teruel se compensan únicamente con un mayor precio de los jamones. Esto no ocurre con el cerdo Ibérico que tiene reconocidos, en la DOP, los jamones, las paletas y los lomos y, por tanto, sus elevados costes de producción se diluyen entre una gama más variada de productos comercializados a mayor precio. Por todo ello parece razonable que se pretenda conseguir la Indicación Geográfica Protegida (IGP) "Carne de Cerdo de Teruel" para el resto de la carne de la canal del cerdo destino a tal fin. Entre toda la carne que aporta la canal del cerdo, hay determinados músculos que pueden tener una calidad diferenciada. De hecho, actualmente se están comercializando con gran éxito algunas piezas del cerdo Ibérico como son: el "secreto" (m. *Lattissimus dorsi*), la "presa" (m. *Serratus ventralis*), la "pluma" (zona anterior y lateral del lomo) y la carrillada (m. *Masseter*), además del solomillo (m. *Psoas*) y el lomo (m. *Longissimus thoracis*), más conocidos (Ventanas *et al.*, 2008). Con estos antecedentes, se decidió llevar a cabo un ensayo para estudiar las características físico-químicas de determinadas piezas (lomo, solomillo, secreto y presa) del cerdo destinado a Jamón DOP Teruel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 14 hembras Duroc x (Landrace x Large White) que se sacrificaron con 130 kg PV. Tras el sacrificio, mediante aturdimiento eléctrico y desangrado, y el oreo se llevó a cabo el despiece de las canales. De canal media canal izquierda se extrajeron íntegras las piezas objeto de estudio (lomo, solomillo, secreto y presa). Del lomo se seccionaron 300 ± 25 g a la altura de la última costilla y el resto de las piezas se utilizaron enteras. En fresco, se midió el color mediante un espectrofotómetro Minolta CM 2600d usando medidas objetivas (CIE, 1976) y a continuación se congelaron a -20°C hasta su posterior análisis. Tras la descongelación (24 h a 4 °C) se volvieron a pesar para determinar las pérdidas por descongelación. Las pérdidas por cocinado y la resistencia al corte, mediante una máquina de ensayo universal Instron 5543, se determinaron siguiendo el método descrito por Honikel (1998). La composición química (extracto etéreo, proteína bruta y humedad) se midió mediante NIT Infratec® 1265. La determinación de ácidos grasos de la grasa intramuscular (GIM) se realizó usando un cromatógrafo de gases Antosystem XL Agilent Technologies modelo 6890N. Los datos se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1990). El tratamiento (tipo de músculo) se incluyó en el modelo como efecto principal y el número de réplicas por tratamiento fue de 14. Se utilizó un test Duncan para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las diferencias en algunas características físico-químicas según el tipo de pieza. Los mayores valores en contenido proteico se obtuvieron en el lomo y el

solomillo, siendo significativamente mayores a los observados en el secreto y a su vez en la presa ($p < 0,001$). En el porcentaje de GIM y humedad, se encontraron diferencias ($p < 0,001$) entre los cuatro músculos, presentando el solomillo la menor proporción de GIM y la mayor de humedad y la presa el mayor contenido en GIM y el menor en humedad, con el lomo y el secreto presentando valores intermedios. Solomillo, secreto y presa mostraron menores pérdidas por descongelación ($p < 0,001$) que el lomo. Asimismo, solomillo y secreto tuvieron menores pérdidas por cocinado que el lomo pero mayores que la presa ($p < 0,001$). Por otro lado, la presa tuvo menor resistencia al corte ($p < 0,001$) que el resto de las piezas. El lomo y el secreto presentaron el color más luminoso ($p < 0,001$), siendo además el del lomo el más saturado ($p < 0,001$) y el del secreto el más amarillo ($p < 0,01$). La presa tuvo el color más intenso ($p < 0,001$) y rojo ($p < 0,001$) y el solomillo el menos saturado ($p < 0,001$).

En la Tabla 2 se muestran las diferencias en perfil de ácidos grasos de GIM según el tipo de pieza. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,10$) entre los diferentes músculos en ácidos grasos saturados (AGS) ó insaturados (AGI). Sin embargo, sí las hubo en el tipo de AGI obtenidos. Así, el solomillo mostró menor ($p < 0,001$) porcentaje en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y mayor ($p < 0,001$) en poliinsaturados (AGPI), así como mayor ratio AGPI/AGS ($p < 0,001$) que el resto de las piezas.

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que hubo numerosas diferencias físico-químicas entre las cuatro piezas cárnicas estudiadas. Cabe destacar las siguientes: el lomo tuvo la menor capacidad de retención de agua; el solomillo mostró el menor contenido en GIM y AGMI y el mayor contenido en humedad y en AGPI; el secreto tuvo el mayor índice de amarillo y la presa mostró el mayor contenido en GIM e índice de rojo y la menor dureza. Todo ello sugiere que podrían comercializarse como piezas individuales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

● CIE (1976). Commission International de l'Eclairage No. 2 to C.I.E. Publication No. 15(E-1.31) 1971(TC-1.3) Bureau de la CIE, Paris, Francia. ● Honikel, K.O. 1998. Meat Science 49:447-457. ● SAS. 1990. SAS/STAT® User's Guide (version 6, 4 th ed.). Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC, EEUU. ● Ventanas, J., Ventanas, S. y Hidalgo, J. (2008). Calidad sensorial y nutricional de la carne y productos del Cerdo Ibérico. En J. Forero (Eds.). El cerdo Ibérico. Una revisión transversal. (pp.185-209). Sevilla: Editorial Junta de Andalucía.

Agradecimientos: A Integraciones Porcinas S.L. (Alcorisa, Teruel) y a Jamones y Embutidos Alto Mijares (Formiche Alto, Teruel) por la cesión de las muestras.

PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF MUSCLES FROM PIGS INTENDED FOR DRY-CURED HAM FROM TERUEL (SPAIN)

ABSTRACT. A trial was conducted to study the physicochemical characteristics of four muscles (LT: *Longissimus thoracis*; PS: *Psoas major*; LD: *Lattissimus dorsi*; SV: *Serratus ventralis*) in pigs slaughtered at 130 kg of body weight intended for dry-cured ham from Teruel (Spain). The LT had the lowest water holding capacity. The PM had the lowest intramuscular fat and monounsaturated fatty acid contents, and the highest moisture and polyunsaturated fatty acid proportions. The LD showed the highest yellowness. The SV had the highest intramuscular fat content and red colour, and the lowest resistance to cutting. It is concluded that there were several physicochemical differences among the muscles studied which suggest that might be commercialized as individual meat pieces.

Key words: muscle; physic-chemical characteristics; heavy pigs.

Tabla 1. Características físico-químicas de cuatro piezas cárnicas procedentes de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

Composición química, %	Lomo (<i>Longissimus thoracis</i>)		Solomillo (<i>Psoas mayor</i>)		Secreto (<i>Latissimus dors</i>)		Presa (<i>Serratus ventralis</i>)		EEM ¹	P ²
Proteína	23,1 ^a		23,5 ^a		20,7 ^b		19,1 ^c		0,187	***
Grasa	3,6 ^c		0,8 ^d		8,2 ^b		11,7 ^a		0,773	***
Humedad	73,2 ^b		75,9 ^a		70,8 ^c		68,8 ^d		0,630	***
Capacidad retención de agua, %										
Pérdidas descongelación	6,53 ^a		3,54 ^b		3,58 ^b		2,35 ^b		0,446	***
Pérdidas cocinado	21,5 ^a		15,9 ^b		16,7 ^b		12,6 ^c		0,849	***
Dureza, kg	2,89 ^a		2,77 ^a		3,09 ^a		2,22 ^b		0,146	***
Color										
L*	47,5 ^a		39,8 ^b		46,0 ^a		38,4 ^b		0,728	***
a*	0,71 ^d		6,65 ^b		4,82 ^c		9,62 ^a		0,271	***
b*	5,31 ^b		4,55 ^b		6,76 ^a		4,89 ^b		0,396	**
c*	5,36 ^c		8,12 ^b		8,45 ^b		10,9 ^a		0,325	***
H ^g	82,4 ^a		34,0 ^c		54,5 ^b		26,4 ^d		2,374	***

¹EEM: error estándar de la media (n=14).

²P: significación; **, p<0,01; ***, p<0,001. En cada fila, diferentes superíndices implican diferencias significativas.

Tabla 2. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular de cuatro piezas cárnicas procedentes de cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

AGS ³	Lomo (<i>Longissimus thoracis</i>)		Solomillo (<i>Psoas mayor</i>)		Secreto (<i>Latissimus dors</i>)		Presa (<i>Serratus ventralis</i>)		EEM ¹	P ²
AGS ³	38,8		38,3		39,0		39,9		0,627	NS
AGMI ⁴	49,2 ^a		41,4 ^b		49,3 ^a		48,1 ^a		0,485	***
AGPI ⁵	12,0 ^b		20,3 ^a		11,7 ^b		11,9 ^b		0,534	***
AGI ⁶	61,2		61,7		61,0		60,1		0,617	NS
AGPI/AGS	0,31 ^b		0,53 ^a		0,30 ^b		0,30 ^b		0,018	***

¹EEM: error estándar de la media (n=14).

²P: significación; NS: no significativo (P>0,10); ***, P<0,001. En cada fila, diferentes superíndices implican diferencias significativas.

³AGS: Σ ácidos grasos saturados = C10:0 + C12:0 + C14:0 + C16:0 + C16:1 + C17:0 + C18:0 + C20:0.

⁴AGMI: Σ ácidos grasos monoinsaturados = C17:1 + C18:1n9 + C18:1n7 + C20:1n9.

⁵AGPI: Σ ácidos grasos poliinsaturados = C18:2n6 + C18:3n3 + C18:2n7 + C20:3 + C20:4n6 + C22:4n6 + C22:5n3.

⁶AGI: Σ ácidos grasos insaturados = AGMI + AGPI.

CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DE PIEZAS CÁRNICAS DE CERDOS DESTINADOS A JAMÓN DO TERUEL

Calvo, S.¹, Panea, B.¹ y Latorre, M.A.²

¹CITA. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza.

²Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Avda. Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza malatorr@unizar.es

INTRODUCCIÓN

Producir un cerdo destinado a la Denominación de Origen Protegida (DOP) Jamón de Teruel supone menores costes que producir un cerdo Ibérico, incluso en intensivo, pero mayores que producir un cerdo comercial. Estas diferencias se deben, en gran medida, a la diferente edad (10 vs 8 vs 6 meses para el Ibérico en intensivo, el de Teruel y el comercial, respectivamente) y peso (150 vs 125 vs 100 kg de peso vivo (PV), respectivamente) en el momento del sacrificio. Actualmente, los sobrecostes de producción de un cerdo destinado a Jamón DOP Teruel se compensan únicamente con un mayor precio de los jamones. Esto no ocurre con el cerdo Ibérico que tiene reconocidos, en la DOP, los jamones, las paletas y los lomos y, por tanto, sus elevados costes de producción se diluyen entre una gama más variada de productos comercializados a mayor precio. Por todo ello parece razonable que se pretenda conseguir la Indicación Geográfica Protegida (IGP) "Carne de Cerdo de Teruel" para el resto de la carne de la canal del cerdo destino a tal fin. Entre toda la carne que aporta la canal del cerdo, hay determinados músculos que pueden tener una calidad diferenciada. De hecho, actualmente se están comercializando con gran éxito algunas piezas del cerdo Ibérico como son: el "secreto" (m. *Lattissimus dorsi*), la "presa" (m. *Serratus ventralis*), la "pluma" (zona anterior y lateral del lomo) y la carrillada (m. *Maseter*), además del solomillo (m. *Psoas*) y el lomo (m. *Longissimus thoracis*), más conocidos (Ventanas *et al.*, 2008). Con estos antecedentes se llevó a cabo un ensayo para estudiar las características sensoriales de determinadas piezas (lomo, solomillo, secreto y presa), así como el tiempo de maduración (1, 3 y 5 días), en el cerdo destinado a Jamón DOP Teruel.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se sacrificaron 7 hembras Duroc x (Landrace x Large White) con 130 kg PV. De cada media canal derecha se extrajeron íntegras las piezas objeto de estudio (lomo, solomillo, secreto y presa). Del lomo se seccionaron 300 ± 25 g a la altura de la última costilla y el resto de las piezas se utilizaron enteras. Las muestras, envasadas al vacío, se maduraron en cámaras frigoríficas a 4 °C durante 1, 3 ó 5 días y después se conservaron a -24 °C. La descongelación se realizó el mismo día de la cata y el cocinado se llevo a cabo en plancha eléctrica hasta que la carne alcanzó 70 °C de temperatura interna. A continuación, las muestras fueron troceadas en cubos de 20x20 mm, envueltas individualmente en papel de aluminio y repartidas a los catadores. Para evitar los posibles efectos de orden de presentación, se sirvieron una tras otra, en un orden previamente diseñado para evitar el efecto de arrastre (Macfie *et al.*, 1989). Se realizaron un total de 5 sesiones con 12 muestras por sesión. Para el análisis sensorial se utilizó un grupo de 7 miembros entrenados (ISO 8586-1, 1992). Se llevó a cabo una formación especial con el fin de reconocer los atributos antes de comenzar el proceso de evaluación de las muestras. Los parámetros seleccionados fueron: intensidad de olor a cerdo, intensidad de olor a grasa, terneza, jugosidad, fibrosidad, untuosidad, intensidad de flavor a cerdo, intensidad de flavor lácteo, intensidad de flavor a grasa, intensidad de flavor metálico, intensidad de flavor ácido y aceptación global. Se utilizó una escala estructurada de 100 puntos (1 nada intenso, 100 muy intenso). Las muestras fueron degustadas por los jueces entrenados en una sala de catas normalizada utilizando un diseño de bloques completos equilibrados (Cochran y Cox, 1978). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 15.0 para Windows. Se realizó un GLM para determinar la importancia de los efectos fijos considerados (tipo de pieza y tiempo de maduración) y el número de réplicas por tratamiento fue de 5. Se utilizó un test Duncan para la comparación de medias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presenta la influencia de la pieza cárnica y del tiempo de maduración sobre distintos aspectos sensoriales. No se detectó efecto del tiempo de maduración ni interacciones significativas sobre ninguna de las características sensoriales estudiadas ($p > 0,05$). El lomo presentó menor olor a cerdo ($p < 0,001$) y jugosidad ($p < 0,001$) que el resto de las piezas estudiadas. Además, el lomo resultó menos tierno y más fibroso que el solomillo con el secreto y la presa en una posición intermedia ($p < 0,001$). Lomo y solomillo mostraron menor untuosidad ($p < 0,001$) y flavor a cerdo ($p < 0,001$) y mayor intensidad de flavor ácido ($p < 0,001$) que secreto y presa. El solomillo tuvo mayor flavor metálico que el lomo y el secreto, con la presa en una posición intermedia ($p < 0,001$). El secreto tuvo mayor olor y flavor a grasa que la presa y ésta a su vez que el lomo y el solomillo ($p < 0,001$). Finalmente, la mayor puntuación en aceptabilidad global tendió a ser para el secreto y la menor para el lomo, con solomillo y presa en una posición intermedia ($p < 0,10$).

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que el lomo tuvo la menor ternura y jugosidad y la mayor fibrosidad, lo que probablemente influyó en obtener la menor calificación en la aceptación global; el solomillo presentó las mayores calificaciones en jugosidad y las menores en fibrosidad; el secreto mostró la mayor intensidad de olor y flavor a grasa y la presa tuvo en general valores intermedios para la mayoría de los parámetros. Todo ello sugiere que podrían comercializarse como piezas individuales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cochran W.C. y Cox G.M. 1978. Diseños experimentales. Trillas, México.
- ISO 8586-1 (1992). International standards organisation publications. Sensory analysis methodology. General guidance for the selection and training and monitoring of assessors. Part 1. Selected assessors.
- Macfie H.J. Bratchell N., Greenhoff K. y Vallis L.V. 1989. Designs to balance the effect of order presentation and first-order and carry over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies*, 4, 129-148.
- Ventanas, J., Ventanas, S. y Hidalgo, J. (2008). Calidad sensorial y nutricional de la carne y productos del Cerdo Ibérico. En J. Forero (Eds.). *El cerdo Ibérico. Una revisión transversal*. (pp.185-209). Sevilla: Editorial Junta de Andalucía.

Agradecimientos: A Integraciones Porcinas S.L. (Alcorisa, Teruel) y a Jamones y Embutidos Alto Mijares (Formiche Alto, Teruel) por la cesión de las muestras y a la Dra. Marimar Campo por su ayuda en el análisis sensorial.

SENSORY CHARACTERISTICS OF MUSCLES FROM PIGS INTENDED FOR DRY-CURED HAM FROM TERUEL (SPAIN)

ABSTRACT. A trial was conducted to study the sensory characteristics of four muscles (LT: *Longissimus thoracis*; PS: *Psoas major*; LD: *Lattissimus dorsi*; SV: *Serratus ventralis*) in pigs slaughtered at 130 kg of body weight intended for dry-cured ham from Teruel (Spain). The LT had the highest fibrousness and the lowest tenderness, juiciness and score in global acceptability. The PM had the lowest fibrousness and the highest fibrousness. The LD showed the highest intensity of fat odour and flavour and score in global acceptation. In general, the SV had an intermediate position for the parameters analyzed. It is concluded that there were several sensory differences among the muscles studied which suggest that might be commercialized as individual meat pieces.

Key words: muscle; sensory characteristics; heavy pigs.

Tabla 1. Efecto del tipo de pieza cárnica y del tipo de maduración sobre las características sensoriales en cerdos destinados a Jamón DOP Teruel.

	Pieza cárnica (PC)					Tiempo de maduración					P ³	
	Lomo (<i>Longissimus thoracis</i>)	Solomillo (<i>Psoas major</i>)	Secreto (<i>Latissimus dorsi</i>)	Preso (<i>Serratus ventralis</i>)		1	3	5	EEM ²	PC	TM	PC x TM
Intensidad de olor a	44,5b	51,4a	56,3a	53,6a		52,8	49,1	52,5	1,06	***	NS	NS
Intensidad de olor a	30,4c	34,4bc	46,2a	37,3b		38,7	33,6	39,0	1,18	***	NS	NS
Termeza	40,6c	73,4a	64,7b	63,1b		59,8	59,9	61,6	1,13	***	NS	NS
Jugosidad	42,3b	55,2a	53,6a	56,4a		51,3	52,4	52,0	1,09	***	NS	NS
Fibrosidad	50,6a	24,6c	31,4b	34,2b		34,9	35,9	34,8	1,19	***	NS	NS
Unituosidad	32,6b	32,8b	51,4a	46,7a		42,4	40,6	39,7	1,13	***	NS	NS
Intensidad de flavor	47,0b	50,1b	58,4a	56,7a		54,3	53,8	51,2	1,03	***	NS	NS
Intensidad de flavor	21,5	20,5	21,9	22,3		21,2	20,8	22,8	0,96	NS	NS	NS
Intensidad de flavor	35,9c	34,2c	58,6a	49,9b		45,6	45,2	43,2	1,24	***	NS	NS
Intensidad de flavor	18,0b	27,4a	17,3b	22,7ab		20,3	22,6	21,1	1,00	***	NS	NS
Intensidad de flavor	34,3a	37,3a	23,6b	25,1b		29,8	31,2	29,2	1,33	***	NS	NS
Aceptabilidad	47,8b	49,4ab	55,4a	53,2ab		52,3	51,7	50,5	1,11	T	NS	NS

¹Valoraciones realizadas sobre 100 puntos (1 nada intenso, 100 muy intenso).

²EEM: error estándar de la media (n=5).

³P: significación; NS: no significativo (P>0,10), τ: P<0,10, ***: P<0,001. En cada fila, diferentes superíndices implican diferencias significativas.

EFFECTO DEL PESO DE SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD FÍSICO-QUÍMICA DE LA CARNE DE CORDEROS DE RAZA ALCARREÑA

Revilla¹, I., Lurueña-Martínez¹, M.A. y Palacios², C.

¹Area de Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Av. Requejo 33, 49022 Zamora. irevilla@usal.es.

²Area de Producción Animal. Universidad de Salamanca. Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Avda Filiberto Villalobos, 119, 37007 Salamanca.

INTRODUCCION

En el mercado español el cordero es producto de tal tradición que en muchos casos se encuentra amparado por Indicaciones Geográficas protegidas como es el caso del Cordero de Extremadura, Navarra y Manchego, el Lechazo de Castilla y León y el Ternasco de Aragón. Dentro de estas IGP, se pueden encontrar dos tipos de productos, el lechazo cuyo peso de canal debe estar entre los 5 y los 8 kg, y el cordero-ternasco cuyo peso de canal está entre los 8 y los 16 kg máximos dependiendo de la IGP. En el caso de que las canales excedan el peso máximo autorizado, estas son menos apreciadas por los consumidores en el momento de la compra, especialmente en el caso del lechazo, aunque estudios previos han demostrado que esta penalización no está justificada en base a la calidad de la carne (Sañudo et al., 1996) mientras que la venta de canales de mayor peso puede contribuir a mejorar los rendimientos productivos de las explotaciones (María et al., 1993). Sin embargo estos resultados están fuertemente influenciados por la raza (Martínez-Cerezo et al., 2005), por lo que se hace necesario establecer la influencia del peso de sacrificio para cada raza en concreto.

La raza Alcarreña pertenece al tronco entrefino y es una oveja de triple aptitud, aunque en la actualidad se explota principalmente para carne. Se produce en Castilla –La Mancha principalmente y su peso de venta más frecuente está en torno a los 25 kg. La carne de corderos de esta raza ha sido reconocida en el 2009 con la distinción de Marca de Calidad Colectiva con dos productos incluidos, el lechal de la Alcarria con un peso de canal de entre 4,5 y 8 kg y el cordero de la Alcarria con un peso de canal de 10 a 15 kg. El objetivo de este estudio fue establecer la influencia que tiene el peso de la canal sobre la calidad de la carne de cordero alcarreño, incluyendo la composición lipídica que es un parámetro que ha sido menos estudiado en bibliografía, para establecer cual es el peso de sacrificio que proporciona las mejores características de calidad a esta raza ovina.

MATERIAL Y METODOS

Los animales que se utilizaron fueron 30 corderos de raza Alcarreña, divididos en tres grupos de acuerdo con su peso de sacrificio: 12±1kg, 19±1kg y 23±1kg. Los animales tras su sacrificio en un matadero local llegaron al Laboratorio de Tecnología de Alimentos tras 3 días de maduración. Las muestras correspondientes al *L.dorsi* (costillar izquierdo) entre las vértebras L1-L6, fueron envasadas al vacío y congeladas a -20°C a la espera del análisis posterior. Los análisis físico-químicos que se realizaron fueron medida de pH con pH-metro de punción, color en grasa de cobertura y carne entre las vértebras 8ª y 9ª tras una hora de exposición al aire determinándose los parámetros $L^*a^*b^*$ usando un observador de 10º y el iluminante D₆₅ en el espacio CIELab El equipo usado fue MiniScan XEPlus (Hunter Lab). El contenido en grasa se determinó por extracción en éter (AOAC, 1990), la humedad usando un analizador de infrarrojos Sartorius MA100 (Lurueña-Martínez *et al.*, 2004), la capacidad de retención de agua se estimó mediante la medida del jugo exprimible (Grau y Hamm, 1953) y las cenizas mediante incineración en mufla (ISO R-936). Para el análisis de textura se procedió a cocinar las muestras envueltas en papel de aluminio en grill de doble placa hasta alcanzar una temperatura centro pieza de 70°C. El análisis de textura se realizó en porciones de 1x1 de sección y 3 cm de longitud usando el texturómetro TX-T2iplus (Stable Micro Systems) equipado con una sonda Warner-Bratzler.

Se analizaron los ácidos grasos del tejido adiposo subcutáneo, para ello se procedió a su extracción con metanol/cloroformo (Folch *et al.*, 1957). Tras la extracción se procedió a la metilación en medio básico usando KOH en metanol anhidro (Murrieta *et al.*, 2003) y análisis

por cromatografía gaseosa (GC 6890 N, Agilent Technologies, USA) equipado con inyector automático y detector FID de acuerdo con el método propuesto por Lurueña-Martínez *et al.*, (2010). El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis ANOVA para el factor peso y posteriormente se utilizó el test LSD Fisher-test para determinar la existencia de diferencias significativas entre muestras (Statgraphic Plus, Manugistics, Inc.1995).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los pesos de canal en frío revelan que el primero grupo de los animales estudiados perteneció a la categoría de “lechal de la Alcarria” (PC=6,15 kg) y los dos grupos restantes a la categoría de “cordero de la Alcarria” (PC= 9,3 y 11,3 kg).

Los resultados relativos a los parámetros de calidad de la carne muestran que el aumento de peso de sacrificio no afectó significativamente a las características físico-químicas básicas de la carne (Tabla 1) de manera que no hubo diferencias en los valores de pH, grasa intramuscular, humedad, cenizas, proteínas ni a la capacidad de retención de agua. Por el contrario se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas en algunos de los parámetros relacionados con la medida mediante métodos instrumentales de propiedades sensoriales de la carne. Así, existió un efecto estadísticamente significativo del peso de sacrificio sobre la fuerza de corte (WBSF), de manera que los corderos sacrificados con 19 kg de peso fueron los más blandos, mientras que los lechales y los corderos de 23 kg presentaron mayores fuerzas de corte y sin diferencias entre sí.

En cuanto al color del músculo, a medida que aumentó el peso de sacrificio los valores de luminosidad disminuyeron y los de rojo aumentaron pero las diferencias no fueron significativas. Únicamente el parámetro b^* (amarillo) disminuyó significativamente a medida que aumentó el peso de manera que la carne de los corderos de 23 kg fue menos amarilla que los de 12 kg. El color de la grasa mostró un aumento significativo de la luminosidad a con el peso de sacrificio, de manera que los corderos de 19 y 23 kg presentaron una grasa significativamente más clara que los de 12 kg, debido a que fue menos amarilla, aunque las diferencias en el parámetro b^* no fueron significativas. Esto podría estar relacionado con una disminución de los adipocitos marrones a medida que aumenta el desarrollo de los animales (Cannon y Nedergaard, 2004).

El perfil lipídico muestra una disminución significativa de los ácidos grasos saturados, lo que produjo un aumento de la relación AGPI/AGS y un aumento de los insaturados a medida que aumenta el peso de sacrificio, resultado de la sustitución de la leche materna por piensos y pastos en la dieta de los corderos. No se produjeron diferencias significativas ni en el contenido total de CLA ni en de AGPI, pero si en la composición de estos últimos, ya que la relación n-6/n-3 aumentó de manera que los corderos de 23 kg presentaron un valor significativamente mayor de este parámetro. Los resultados muestran que fue este último grupo de animales el que presenta un perfil lipídico significativamente diferente, mientras que no hubo diferencias en ninguno de los parámetros estudiados entre los lechales y los corderos de 19 kg.

Estos resultados muestran que apenas hubo diferencias entre los lechales de 12 kg y los corderos de 19 kg, estando estos últimos caracterizados por ser más blandos y con la grasa más clara, mientras que el parámetro que diferenció a los corderos de 23 kg fue el color de la carne y grasa y su composición lipídica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Cannon, B., & Nedergaard, J. 2004. *Physiol. Rev.*, 84, 277-359.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G. H. A. 1957 *J. Biol. Chem.*, 226: 497-509.
- Grau, R., & Hamm, R. 1953. *Muscle as food* (pp. 135-199). Orlando, FL; Academic Press.
- Lurueña-Martínez, M.A., Vivar-Quintana, A.M., Revilla I. 2004. *Meat Sci.*, 68, 383-389.
- Lurueña-Martínez, M.A., Palacios C; Vivar-Quintana, A. M.; Revilla, I. 2010 *Meat Sci.*, 84: 677-683.
- María, G. A., Boldman, K. G. & Van Vleck, L. D. 1993. *J. Animal Sci.*, 71, 845.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B., Medel, I., Delfa, R., Sierra, I., Beltrán, J.A., Cepero, R., Olleta, J.L. 2005. *Meat Sci.*, 69: 325-333.
- Murrieta, C. M., Hess, B. W., Rule, D. C. (2003) *Meat Sci.*, 65: 523-529.
- Sañudo, C., Santolaria, M.P., María, G., Osorio, M. Sierra, I. (1996). *Meat Science*, 42: 195-202.

Agradecimientos: Agradecemos la colaboración de los ganaderos de la Asociación de Ganaderos de ganado ovino Alcarreño AGRAL así como a los miembros de la Junta directiva.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros físico-químicos de calidad de la carne para los tres pesos de sacrificio.

ns, diferencias no significativas ($P > 0,0500$), * $P \leq 0,0500$; ** $P \leq 0,0100$; *** $P \leq 0,0010$ WBSF: Fuerza de corte (Warner-Bratzler Shear Force); CRA: capacidad de retención de agua

	12kg	19 kg	23 kg	Significación	P
Peso canal	6,15±0,88	9,34±0,82	11,31±0,99	***	0,0000
pH	5,59±0,10	5,62±0,06	5,62±0,08	ns	0,4910
Grasa	1,44±0,34	1,67±0,55	1,41±0,24	ns	0,0874
Humedad	77,34±0,69	77,20±0,80	77,47±0,99	ns	0,5933
Cenizas	1,56±0,45	1,69±0,38	1,64±0,42	ns	0,6146
Proteínas	19,66±0,50	19,44±0,63	19,48±1,08	ns	0,6337
WBSF (N)	55,35 ^b ±20,42	40,01 ^a ±11,21	55,01 ^b ±14,57	**	0,0040
CRA	20,07±2,78	20,13±1,63	19,13±2,11	ns	0,3109
Color músculo					
L*	44,60±2,74	45,14±3,02	43,31±2,69	ns	0,1180
a*	10,98±1,58	11,19±2,17	11,59±1,40	ns	0,5401
b*	13,59 ^b ±1,30	12,82 ^{ab} ±1,85	12,09 ^a ±1,34	*	0,0106
Color grasa					
L*	70,79±4,06 ^a	74,83±3,85 ^b	74,22±4,00 ^b	**	0,0042
a*	4,26±1,99	4,38±2,95	4,68±2,70	ns	0,8691
b*	14,85±3,45	13,30±4,87	13,08±4,68	ns	0,3858

Tabla 2. Valores medios de ácidos grasos intramusculares (g/100g) agrupados por longitud de cadena y tipo de instauración para los tres pesos de sacrificio

	12 kg	19 kgs.	23 kg	Significación	P
AGS	53,90 ^b ±6,47	51,19 ^b ±4,21	44,57 ^a ±3,23	***	0,0000
AGMI	32,40 ^a ±6,37	35,25 ^a ±4,99	40,92 ^b ±3,03	***	0,0000
AGPI	4,09±0,57	4,17±0,56	4,58±0,79	ns	0,0675
CLA	0,86±0,27	0,89±0,17	0,81±0,29	ns	0,6669
AGPI/AGS	0,07 ^a ±0,02	0,07 ^a ±0,01	0,09 ^b ±0,03	**	0,0012
n-6/n-3	3,88 ^a ±0,91	4,76 ^a ±2,32	9,56 ^b ±5,07	***	0,0000

ns, diferencias no significativas ($P > 0,0500$), * $P \leq 0,0500$; ** $P \leq 0,0100$; *** $P \leq 0,0010$

AGS: ácidos grasos saturados totales, AGMI: ácidos grasos monoinsaturados totales, AGPI: ácidos grasos poliinsaturados totales, CLA: ácido linoleico conjugado total.

SLAUGHTER WEIGHT EFFECT ON PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF ALCARREÑA LAMB MEAT

ABSTRACT. The effect of three slaughter weights (12 kg, suckling lamb) 19 and 23 kg (light lamb) on Alcarreña lamb meat quality were studied. Physico-chemical parameters, fatty acid profile, instrumental colour and texture were evaluated. Results did not show statistical significant differences in pH, intramuscular fat, moisture, protein content, ash or water holding capacity of meat due to the slaughter weight. However, meat from 19-kg lambs showed the lowest values of WBSF and this meat had paler fat than suckling lamb meat although without differences with 23-kg lambs. Regarding fatty acid profile, meat from 23 kg lambs showed higher values of monounsaturated fatty acids and lower values of saturated fatty acids, which increased the PUFA/SFA ratio, and a higher proportion of n-6 fatty acids. No significant differences in fatty acid profile between 12 and 19 kg lamb were observed.

Keywords: pH, colour, shear force, fatty acids

EFFECTO DEL PESO DE SACRIFICIO SOBRE LA CALIDAD SENSORIAL DE LA CARNE DE CORDEROS DE RAZA ALCARREÑA

Revilla¹, I., Lurueña-Martínez¹, M.A. y Palacios², C.

¹Area de Tecnología de Alimentos, Universidad de Salamanca, E.P.S. de Zamora, Av.

Requejo 33, 49022 Zamora. irevilla@usal.es.

²Area de Producción Animal. Universidad de Salamanca. Facultad de Ciencias Agrarias y Ambientales, Avda Filiberto Villalobos, 119, 37007 Salamanca.

INTRODUCCION

Son muchos los factores que afectan a la calidad de la carne de cordero (Sañudo et al., 1998) y por lo tanto numerosos los estudios que se han realizado encaminados a esclarecer la influencia de los mismos, tanto empleando métodos físico-químicos como sensoriales. Estos últimos han aumentado en los últimos años debido a que las preferencias y percepciones del consumidor son determinantes a la hora de la compra (Hernández-Gimeno, 2002), a que los métodos instrumentales sólo pueden sustituir parcialmente a la percepción que se tiene cuando se huele, mastica y deglute la carne (Thomson, 2002) y también al desarrollo de una adecuada metodología de análisis sensorial y estadístico. Entre los factores que se han estudiado se encuentra la influencia del peso de sacrificio, encontrándose a menudo resultados contradictorios ya que mientras algunos trabajos encuentran diferencias en aroma y textura (Jeremiah et al., 1998; Sañudo et al., 1997) pero en otros no hay efecto (Crouse, 1983; Suárez et al., 2000), solo se encuentran diferencias en color o jugosidad (Sañudo et al., 1996) o el mismo depende de otros factores como la raza (Martínez-Cerezo et al., 2005). Todo esto da idea de la complejidad a la hora de determinar el efecto de este factor sobre las características de la carne y que debe ser estudiado para cada caso concreto.

En el 2009 la carne de raza Alcarreña ha sido reconocida con la distinción de Marca de Calidad Colectiva y esta marca incluye dos posibles categorías: el lechal de la Alcarria con un peso de canal de entre 4,5 y 8 kg y el cordero de la Alcarria con un peso de canal de 10 a 15 kg. Este producto debido a su incorporación reciente a una marca de calidad ha sido objeto de menos estudios por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la influencia que tiene el peso de sacrificio sobre las características sensoriales de la carne de cordero de la raza Alcarreña incluyéndose para ellos tres grupos uno que correspondió a la categoría de lechal y dos grupos a la categoría de cordero de la Alcarria.

MATERIAL Y METODOS

Los animales que se utilizaron fueron 30 corderos de raza Alcarreña, divididos en tres grupos de acuerdo con su peso de sacrificio: 12±1kg, 19±1kg y 23±1kg, de manera que el primero grupo de los animales estudiados perteneció a la categoría de "lechal de la Alcarria" y los dos grupos restantes a la categoría de "cordero de la Alcarria". Los animales tras su sacrificio en un matadero local llegaron al Laboratorio de Tecnología de Alimentos tras 3 días de maduración. Las muestras correspondientes al *L.dorsi* (costillar izquierdo) entre las vértebras L1-L6, fueron envasadas al vacío y congeladas a -20°C a la espera del análisis posterior. La preparación de las muestras comenzó con una descongelación lenta entre 4-6°C, para después cortar el músculo en porciones de 1 cm de grosor. Una de estas porciones se reservó para el análisis sensorial de la carne cruda mientras que el resto que se colocaban envueltas en papel de aluminio y se cocinaban al grill de doble placa hasta que alcanzaran una temperatura en el centro pieza de 70°C, midiéndose con una sonda de punción (AMSA, 1978).

El panel de cata estaba constituido por 10 personas entrenadas en el uso de la metodología del Análisis Cuantitativo Descriptivo (QDA). Los jueces evaluaron las muestras según una lista de descriptores que previamente se habían elegido y definido durante el entrenamiento y que quedó constituida por 5 parámetros en carne cruda y 15 parámetros en carne cocinada. Para fijar los puntos de la escala se contaba con fotografías para los parámetros de aspecto y con diferentes estándares para los parámetros de olor, textura y sabor. La evaluación se realizó sobre escalas estructuradas de nueve puntos en las cuales el 1

representaba la intensidad mínima y el 9 la intensidad máxima del atributo. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis ANOVA para el factor peso y posteriormente se utilizó el test LSD Fisher-test para determinar la existencia de diferencias significativas entre muestras (Statgraphic Plus, Manugistics, Inc.1995).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados relativos a las características de la carne cruda muestran que sólo se encontraron diferencias significativas para el color de la carne, de manera que la carne de cordero de 19 kg fue ligeramente más oscura que la de los corderos de 23 kg pero sin diferencias significativas con la carne de lechal (12 kg). Estos datos no concuerdan con los determinados instrumentalmente, en los cuales se observó un ligero aumento aunque no significativo del color de la carne con el peso. En los parámetros de cantidad de grasa y nervio se observó unos valores más bajos para el grupo de corderos de 19 kg, así como una menor intensidad de aroma, pero sin diferencias significativas.

En cuanto a los resultados obtenidos sobre carne cocinada, en análisis estadístico de los parámetros de aspecto revela la existencia de diferencias significativas para el color, de manera que la intensidad de color rosa disminuyó al aumentar el peso de sacrificio, de manera que los animales de 19 y 23 kg fueron significativamente más claros que los de 12 kg, resultados que concuerdan con lo hallado para el color instrumental de la grasa, pero no con el aspecto en crudo ni con lo encontrado en trabajos previos (Sañudo et al., 1996) que muestran un aumento de color con el peso de sacrificio. Al igual que ocurrió en crudo no se observaron diferencias significativas para la cantidad de grasa, para la cual el lechal obtuvo las puntuaciones más altas igual que en crudo, ni para el aspecto fibroso. Al igual que ocurría en la carne cruda no se observaron diferencias significativas en el olor de la carne y lo único destacable es una puntuación ligeramente más alta en aromas anómalos para los pesos más altos.

En relación a la textura se puede observar que la carne de los corderos de 19 kg presentó los valores más bajos de dureza y fibrosidad, siendo los valores de esta última característica significativamente más bajos que para la carne de cordero de 23 kg, pero igual a los de la carne de lechal. Estos resultados coinciden con los obtenidos en la evaluación instrumental de la textura, que mostraron valores más bajos de la fuerza de corte para el grupo de corderos de 19 kg. Aunque normalmente estos dos parámetros se correlacionan con la masticabilidad, en este caso se observó un aumento de este parámetro con el peso de sacrificio al igual que en caso del residuo en garganta, si bien de nuevo las diferencias no fueron significativas. La carne de cordero de 19 kg presentó además los valores más altos de jugosidad y sensación grasa, pero sin diferencias significativas.

El análisis de los resultados de los parámetros sensoriales relacionados con el sabor mostró un aumento en el valor de todos ellos con el peso de sacrificio en especial al pasar de los 12 a los 19 kg, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa, resultados similares a los encontrados por otros autores (Jeremiah et al., 1998; Martínez-Cerezo et al., 2005). Este aumento en el sabor, en especial en lo que se define como sabor característico a cordero se puede relacionar con el cambio en el perfil lipídico (Sink, 1979) ya que todos los pesos presentaron valores iguales de contenido en grasa intramuscular.

Los resultados pues muestran que las diferencias en cuanto a las características sensoriales debidas al peso de sacrificio fueron muy escasas, siendo lo más destacado el descenso de la fibrosidad encontrada para los corderos de 19 kg, y la disminución del color con el peso de sacrificio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AMSA 1978. American Meat Science Association, National Livestock and Meat Board. Chicago, IL.
- Crouse, J.D. 1983. Food Tech. 37(5): 264-268.
- Hernández-Gimeno, J.M. 2002. Eurocarne, 106, 33-44.
- Jeremiah, L.E., Tong, A.K.W. & Gibson, L.L. 1998. *Food Res. Int.*, 31: 227-242.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Panea, B. & Olleta, J.L. 2005. *Meat Sci.*, 69: 797-805.
- Sañudo, C., Campo, M.M., Sierra, I. María,G.A., Olleta, J.L. & Santolaria, P. 1997. *Meat Sci.*, 46: 357-365.
- Sañudo, C., Sanchez, A., & Alfonso M. 1998. *Meat Sci.*, 49(1): S29-S64.
- Sañudo, C., Santolaria, M.P., María, G., Osorio, M. Sierra, I. 1996. *Meat Sci.*, 42: 195-202.
- Sink, J.D. (1979). *J. Food Sci.*, 44(1): 5-11.
- Suarez, V.H.,

Buseti, M.R., Garriz, C.A. Gallinger M.M. & Babinec, F.J. 2000. Small Rum. Res. 36: 85-89.
 ●Thomson, J. 2002. Meat Sci, 62 295-308.

Agradecimientos:

Agradecemos la colaboración de los ganaderos de la Asociación de Ganaderos de ganado ovino Alcarreño AGRAL así como a los miembros de la Junta directiva.

Tabla 1. Valores medios de los parámetros evaluados sobre carne cruda para los tres pesos de sacrificio

		12 kg	19 kilos	23 kg	Significación	P
Aspecto	Color rosa	6,67 ^{ab} ±0,82	7,83 ^b ±0,98	6,00 ^a ±1,26	*	0,0246
	Cantidad de grasa	3,67±0,52	2,83±0,41	3,33±1,03	ns	0,1557
	Cantidad de nervio	3,00±0,89	2,33±0,82	3,33±1,21	ns	0,2363
Olor	Intensidad	4,50±1,05	3,50±1,05	4,17±1,17	ns	0,2994
	Anómalo	1,50±0,84	1,17±0,41	1,17±0,41	ns	0,5385

ns, diferencias no significativas ($P>0,0500$), * $P\leq0,0500$; ** $P\leq0,0100$; *** $P\leq0,0010$

Tabla 2. Valores medios de los parámetros evaluados sobre carne cocinada para los tres pesos de sacrificio

		12 kg	19 kilos	23 kg	Significación	P
Aspecto	Color marrón	5,00 ^b ±1,10	3,67 ^a ±1,21	2,83 ^a ±0,75	**	0,0086
	Cantidad de grasa	2,83±0,75	2,17±0,75	2,17±0,75	ns	0,2407
	Fibrosidad	2,83±0,98	3,17±0,75	2,50±0,55	ns	0,3611
Olor	Intensidad	3,83±1,83	3,83±1,17	3,67±1,03	ns	0,9717
	Anómalo	1,33±0,52	1,33±0,52	1,67±0,82	ns	0,5851
Textura	Dureza	4,33±0,82	4,00±1,55	4,67±1,51	ns	0,6936
	Masticabilidad	4,50±1,22	5,00±1,10	5,83±1,72	ns	0,2676
	Fibrosidad	4,83 ^a ±0,41	4,33 ^a ±1,37	6,83 ^b ±0,41	***	0,0003
	Jugosidad	2,83±0,75	3,50±1,22	2,33±0,52	ns	0,1039
	Sensación grasa	2,50±1,05	2,67±1,03	2,17±0,75	ns	0,6603
Sabor	Intensidad	3,33±0,52	4,67±1,37	4,67±1,37	ns	0,1021
	Ácido	1,67±0,82	2,17±0,98	2,17±0,75	ns	0,5207
	A cordero	2,67±0,82	3,50±1,05	4,00±1,26	ns	0,1222
Otros	Residuo garganta	2,67±0,82	3,17±0,75	3,67±0,82	ns	0,1277

ns, diferencias no significativas ($P>0,0500$), * $P\leq0,0500$; ** $P\leq0,0100$; *** $P\leq0,0010$

SLAUGHTER WEIGHT EFFECT ON SENSORY CHARACTERISTICS OF ALCARREÑA LAMB MEAT

ABSTRACT. The effect of three slaughter weights (12 kg, suckling lamb) 19 and 23 kg (light lamb) on Alcarreña lamb meat sensory quality were studied. Aspect and odour parameters were determined both in raw and cooked meat, and texture and flavour parameters were determined in cooked meat. Results showed no significant differences for fat, sinew content and odour intensity in raw meat but pink colour intensity were significantly higher in the meat from 19-kg slaughter weight lambs. Regarding cooked meat, no significant differences were observed for fat content, fibrous aspect and odour parameters although brown colour was significantly lower in lamb than in suckling lamb meat samples. The meat of 19-kg slaughter weight samples showed lower values for hardness and fibrous sensation, being the differences statistically significant for the later, and higher although no significant values for juiciness and fat sensation. Finally an increase no statistically significant in the scores of flavour parameters with the slaughter weight was observed.

Keywords: QDA, aspect, texture, flavor

CALIDAD DE CARNE DE CAPRINOS DE “ALTO CAMAQUÃ” (BRASIL), DE DIFERENTES EDADES

Lemes⁽¹⁾, J.S., Osório, M.T.M., Osório, J. C.S., Borba, M.F., Macedo, R. F, Martins L. y Resconi, V.

¹ Alumna de doctorado del Programa de Pós-graduação em Zootecnia / UFPel, Brasil, bolsista CAPES. E-mail: schneiderlemes@yahoo.com.br;

INTRODUCCIÓN

En el sur de Brasil, la región denominada “Alto Camaquã”, situada en el Estado de *Rio Grande do Sul*, forma parte de la Asociación Internacional de Montañas Famosas (World Famous Mountains Association), tras un congreso realizado en Jiujiang (China). Este territorio se destaca por la conservación de un paisaje, sobre el que a lo largo de los años, fue consolidándose una actividad ganadera de pastoreo extensivo, actualmente muy valorada por el consumidor. Así, se puede vislumbrar una oportunidad para la región, la de desarrollar su imagen como productora de carne de calidad, vinculando procesos productivos propios y un ambiente original y de alto valor ecológico (Borba & Trindade, 2009).

La producción caprina se desarrolla con particularidades propias, desde hace más de 150 años en la región: cría en extensivo, baja interferencia humana, uso de genotipos nativos y/o adaptados, hábitos de pastoreo de tipo arbóreo-arbustivo y con alta dependencia de los recursos locales, características que pueden ser utilizadas como estrategia de diferenciación de la carne de caprino de la región. El período de nacimientos es tradicionalmente en invierno, y el sacrificio normalmente tardío, aproximadamente a los 11-12 meses de edad.

Este estudio tuvo como objetivo el evaluar la influencia de la edad de sacrificio sobre las características instrumentales de la carne de caprinos de 8 y 11 meses de edad, procedentes de la región del Alto Camaquã, con vistas a la construcción de bases tecnológicas para producir una marca de calidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 34 caprinos machos castrados: 20 de 11 meses y 14 de 8 meses de edad. Al sacrificio, en invierno, los animales de 11 meses de edad presentaron 20,55 kg de peso vivo promedio; mientras que los animales de 8 meses pesaron 22,70 kg y fueron sacrificados en verano. Todos los animales permanecieron con sus madres hasta dos días antes del sacrificio.

El pH se midió inmediatamente después del sacrificio y a las 48 horas *post mortem*, en el *Longissimus dorsi* entre la 12^a y 13^a costillas, con electrodo de penetración (pH-metro Marte MB 10). Para la realización de otros análisis se extrajo el músculo *Longissimus dorsi* entero del lado izquierdo. Se determinó la capacidad de retención de agua (CRA) según el método de presión de Grau y Hamm (1953, modificado por Sierra, 1973). Se utilizó el colorímetro Minolta Chroma Meter CR300A para determinar el color de la carne, tras 15 minutos de exposición al oxígeno.

La dureza instrumental de la carne con 4 días de maduración, se evaluó por el método de cizalla Warner-Bratzler, utilizando carne cocinada al grill, hasta alcanzar una temperatura interna de 70 °C.

El diseño experimental utilizado fue completamente aleatorio, con el factor fijo edad de sacrificio (8 y 11 meses). Los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA-GLM). El modelo estadístico usado fue: $Y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij}$, donde: Y_{ij} = variable estudiada; μ = media general; S_i = efecto edad; e_{ij} = error experimental, utilizando el peso de sacrificio como

covariable. También se realizó un análisis de correlación de Pearson, con el programa NCSS 7.0 (2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH 48 h del músculo *Longissimus dorsi* fue superior para los cabritos de 8 meses de edad (tabla 1). Eso se debe posiblemente al mayor estrés de los animales más jóvenes, en momento del sacrificio, los cuales presentaron las características de comportamiento frente al estrés típicas de la especie (Price, 1980). Sin embargo, los valores de los dos tratamientos son semejantes a los encontrados en la literatura para carne de caprino (Guzmán et al., 2008, Gaviraghi et al., 2007; Kannan et al., 2003; Madruga et al., 1999; Hogg et al., 1992).

Además, los cabritos de 8 meses presentaron un menor índice de luminosidad (L*) y una mayor intensidad de rojo a*, indicando una coloración más oscura en la carne (tabla 1). Estos resultados de color podrían originarse del pH más alto detectado en los cabritos más jóvenes. Los animales de 11 meses presentaron un mayor índice b*, lo cual podría indicar una mayor concentración de carotenoides, entre otros pigmentos de coloración amarilla.

No se encontraron diferencias en los valores de CRA (tabla 1), sin embargo los animales de 8 meses tienden a tener una mayor CRA. Las variaciones de CRA están relacionadas con la velocidad de reducción del pH durante el *rigor mortis*, y con su valor final; cuanto mayor sea el pH, mayor será la capacidad de retención de agua (Lawrie, 2005).

La fuerza de cizallamiento fue superior para los animales sacrificados a los 11 meses. Entre otros factores, la fuerza de corte podría estar relacionada positivamente con la edad del animal (Dhanda et al. 2003).

El pH presentó una correlación significativa con todas las variables de calidad de carne estudiadas (tabla 2). Los resultados obtenidos para los animales sacrificados a los 8 meses (pH y color de la carne), podrían ser indicativos de una carne DFD (*dark, firm and dry*).

En conclusión, los cabritos de 8 meses presentaron valores de pH más elevados y un color de carne más oscura, respecto a los cabritos de 11 meses, lo que podría indicar un alto estrés previo al sacrificio en los animales más jóvenes, por lo que habría que mejorar las condiciones durante el periodo de pre-sacrificio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- # Borba, M. & Trindade, J. P. P. 2009. Campos Sulinos - conservação e uso sustentável da biodiversidade. Brasília: MMA, 391-403 # Dhanda, J.S., Taylor, D.G. & Murray, P.J. 2003. Small Ruminant Research. 50: 57-66, # Gaviraghi, A., Saltalamacchia, F., D'angelo, A., Noè, L., Lacurto, M., Mormile, M. & Greppi, G.F. 2007. Ital. J. Anim. Sci. 6: 619-621. # Guzmán, J.L., Delgado-Pertíñez, M., Zarazaga, L.A., Celi, I., Flores, A., Puerta, R., Acosta, J.M. & Argüello, A. 2008. In: XXXIII Jornadas Científicas y XII Internacionales da Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Anais... Almería: España, Septiembre. # Hogg, D.W., Mercer, G. J. K., Mortimer, B.J., Kirton, A.H. & Duganzich, D.M. 1992. Small Ruminant Research, 8: 243-256. # Kannan, G., Kouakou, B., Terrill, T.H. & Gelaye, S. 2003. Journal Animal Science. 81:1499–1507, # Lawrie, R.A. 2005. Ciência Da Carne. Porto Alegre: Artmed. # Madruga, M.S., Arruda, S.G.B. & Nascimento, J.A. 1999. Meat Science, 52: 119-125. # NCSS 7.0. 2005. Statistical System for Windows-User's Guide I, II, III. Kaysville, Utah.# Price, E.O. & Thos, J., 1980. Appl. Anim. Ethol. 6: 331-339. # Sierra, I. 1973. Producción De Cordero Joven Y pesado en la raza Raza Aragonesa. I.E.P.G.E. n. 18.

Tabla 1. Medias y error estándar del pH, capacidad de retención de agua (CRA), color de la carne y dureza en cabritos de diferentes edades al sacrificio.

Medida	8 meses	11 meses
pH (48h)	6,3 + 0,04 ^a	6,1 + 0,04 ^b
CRA (%)	13,3 ± 0,76 ^a	14,2 ± 0,63 ^a
Luminosidad (L)	35,6 ± 0,70 ^a	41,7 ± 0,59 ^b
Índice de rojo (a*)	17,6 ± 0,4 ^a	15,4 ± 0,34 ^b
Índice de amarillo (b*)	1,5 ± 0,52 ^a	4,2 ± 0,43 ^b
Fuerza (kgf/cm ²)	3,0 + 0,24 ^a	4,7 + 0,20 ^b

Letras diferentes en la misma línea, para cada medida instrumental, indican diferencias significativa ($P < 0,05$).

Tabla 2. Coeficientes de correlación (r) entre las medidas de calidad de carne evaluadas en cabritos de diferentes edades al sacrificio.

Matriz de Correlación	pH 0	pH 48	L*	a*	b*	CRA
pH 48	(0,71)**					
L*	(0,52)*	(-0,80)**				
a*	(0,34)*	(0,62)**	(-0,73)**			
b*	(-0,59)**	(-0,63)**	(0,67)**	-0,31		
CRA	0,07	(0,33)*	(-0,47)**	(0,36)*	(-0,36)*	
Fuerza de corte	(-0,43)*	(-0,60)**	(0,46)**	(-0,38)*	(0,43)*	-0,24

pH 0 = pH medido inmediatamente después del sacrificio, pH 48 = pH medido después de 48 horas del sacrificio.

L* = luminosidad, a* = índice de rojo, b* = índice de amarillo, CRA = capacidad de retención de agua. ** $P < 0,01$; * $P < 0,05$

Agradecimientos: Pesquisa financiada pelo CNPq/Embrapa Pecuária Sul/CAPES e Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UFPel, Brasil.

GOAT MEAT QUALITY OF "ALTO CAMAQUÃ" (BRAZIL), OF DIFFERENT AGES

ABSTRACT. In this study it was analyzed the influence of slaughter age on the instrumental characteristics of meat from goats, 8 and 11 months old, from the region of "Alto Camaquã", Brazil. The pH 48 h in the *Longissimus dorsi* muscle was higher for goats with 8 months. Also, the meat of the younger animals was comparatively darker. These results could be related to the higher pH values. The shear force was higher in the animals slaughtered at 11 months. The pH was significantly correlated with all the variables of meat quality studied. The results for goats slaughtered at 8 months (pH and meat colour) could be indicative of DFD meat (dark, firm and dry).

Keywords: pH, color, tenderness, water holding capacity.

CALIDAD DE LA CANAL DE LA RAZA CAPRINA BERMEYA

Monge, P.¹, Lemes, J.^{1,2}, Campo, M.M.¹, Muela, E.¹, Guerra, V.³ y Sañudo, C.¹

¹ Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013-Zaragoza. csanudo@unizar.es

² Alumna de doutorado do PPGZ, bolsista CAPES, Universidade Federal de Pelotas. Campus Universitário s/ n°, 96010-900. Pelotas - Brasil.

³ Asociación de Criadores de la cabra Bermeya, Cabrales, Asturias

INTRODUCCIÓN

La raza Bermeya es una raza caprina autóctona de Asturias catalogada como de doble aptitud (carne-leche), que se explota preferentemente en las áreas montañosas de la parte sur del Principado. En las últimas décadas, ha entrado progresivamente en decadencia debido a la entrada de razas foráneas y al desinterés de los ganaderos por la falta de diferenciación de la raza y sus producciones.

El desarrollo imparable de las marcas de calidad en carnes frescas y la demanda de productos locales y "auténticos" por parte de los consumidores con cierto poder adquisitivo, reclama la existencia de estudios en los que se tipifiquen dichos productos y se analice su calidad en comparación con sus posibles competidores o con referentes en el mercado. Para eso es necesario un estudio de las características de la canal y de la carne, para después plantear estrategias de marketing y, en último término, tomar la decisión de desarrollar, o no, una marca dada y diferenciada. Por ello, el objetivo del estudio es evaluar las características de la canal y compararlas con las de otra raza de referencia en el mercado (Murciano Granadina).

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio de emplearon cabritos, machos, pertenecientes a la categoría lechal, 12 de la raza Bermeya de peso ligero, representativos del sistema de explotación tradicional de la raza y 12 cabritos lechales de la raza Murciano-Granadina, procedentes de la Asociación de Criadores de la Raza Murciano-Granadina de producción intensiva.

Las variables medidas fueron: peso vivo, peso de la cabeza, peso canal caliente y peso canal fría. También fueron evaluadas medidas morfológicas sobre la canal: K: longitud externa de la canal; F: longitud de la pierna; G: anchura grupa; BG: perímetro grupa; Th: profundidad del tórax; U: perímetro torácico a la altura de la cruz; OS₁: anchura articulación tarso- metatarsiana; OS₂: anchura máxima del tarso. A partir de estas variables se calculó el índice de compacidad de la canal (peso canal fría/ longitud externa canal), el índice de compacidad de la pierna (anchura grupa/ longitud de la pierna) y el desarrollo del tarso (OS₁+ OS₂/ 2) (Cañeque & Sañudo, 2000).

Tras la toma de las medidas morfológicas se procedió a la extracción de la espalda izquierda siguiendo un protocolo estandarizado, tras lo que se congelaron envasadas al vacío a una temperatura de -18 °C hasta 24 horas antes de realizar la disección, momento en el cual fueron descongeladas en condiciones de refrigeración. La disección de las espaldas se realizó con la ayuda de un bisturí. Los tejidos diseccionados fueron: muscular, óseo, adiposo y otros.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan las medias (\pm desviación típica) y niveles de significación para el efecto de la raza (Bermeya o Murciano Granadina) sobre los parámetros de calidad de la canal. La raza tuvo efecto significativo en todos los parámetros de calidad analizados. Sin embargo, estas diferencias pueden ser debidas en general a las diferencias de peso de los animales del estudio, ya que los animales de la raza Bermeya tenían unos pesos superiores a los de la raza Murciano Granadina.

En la Tabla 2 se presentan las medias (\pm desviación típica) y niveles de significación para los parámetros morfológicos de la canal en función de la raza, covariando para el peso canal fría para contrarrestar las diferencias debidas a los pesos de sacrificio. Los resultados muestran que existen diferencias significativas en todas las variables analizadas, excepto en la anchura máxima del tarso. Los valores más altos en todas las variables se correspondieron con la raza Bermeya, lo que nos da idea, como era de esperar, de las diferencias de aptitud debido al mayor potencial carnívor de esta raza.

De la misma manera, con respecto a la composición tisular de la espalda (Tabla 3), se encontraron diferencias significativas para todos los parámetros tisulares, siendo mayor el porcentaje de hueso y músculo en la raza Bermeya, lo que demuestra una mayor vocación carnívora o una alimentación menos intensiva. Así, el porcentaje de grasa fue muy superior en la raza Murciano-Granadina, fruto de la mayor disponibilidad energética de estos animales por la mayor disponibilidad de leche, debido a la aptitud lechera de la raza. Podemos decir a la vista de los resultados que la raza Bermeya es una raza con menor engrasamiento y mayor cantidad de carne que la raza Murciano-Granadina, a estos pesos de sacrificio. Se ha descrito por otros autores que la raza influye sobre el músculo y la grasa de la canal y, en menor grado sobre la proporción de hueso (Mahgoub y Lu, 1998) como así observamos en nuestros resultados.

Analizando el efecto de cinco razas (Moncaína, Pirenaica, Murciano Granadina, Negra Serrana y Blanca Celtibérica) sobre los parámetros de composición tisular de la espalda (Muela *et al.*, 2007) se han encontrado unos valores en la raza Murciano-Granadina que resultan equivalentes a los obtenidos en este estudio, lo que nos permite comparar los resultados obtenidos en la raza Bermeya con las otras cuatro razas caprinas estudiadas. Así podemos decir que el porcentaje correspondiente a la cantidad de grasa total ha sido menor respecto a las otras razas cárnicas sacrificadas a un peso ligeramente inferior.

En las condiciones de este estudio se puede concluir que los cabritos de raza Bermeya sacrificados a peso ligero presentan una aceptable morfología, un mayor porcentaje de músculo y hueso, y un menor engrasamiento que los de raza Murciano Granadina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cañeque, V. & Sañudo, C. 2000. Metodología para el estudio de la calidad de la canal y la carne en rumiantes. Madrid: Ministerio de Ciencia y Tecnología, 255p.
- Mahgoub, O. & Lu, C. D. 1998. Growth, body composition and carcass tissue distribution in goats of large and small sizes. *Small Ruminant Res.*, 27, 267-278.
- Muela, E., Sañudo, C., Cilla, I., Olleta, J.L., Campo, M.M., Jiménez, M.R., Pardos J.J., Horcada, A., Alcalde, M.J. y Delfa, R. 2007. Efecto de la raza sobre parámetros de calidad de la canal y de la carne de cabritos. *Actas del XXXII Congreso de la SEOC*, 61-64. Mallorca.

Tabla 1. Medias (\pm desviación típica) y niveles de significación para el efecto de la raza en diversas variables de calidad del animal de sacrificio.

	n	Bermeya	n	Murciano Granadina	p
Peso vivo	12	15,75 \pm 3,13	8	11,50 \pm 0,89	**
PCC	12	7,37 \pm 1,93	12	5,79 \pm 0,72	*
PCF	12	7,01 \pm 1,86	12	5,64 \pm 0,71	*

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$;

Tabla 2. Medias (\pm error típico) y niveles de significación para los parámetros morfológicos en función de la raza, covariando para el peso canal fría.

	n	Bermeya	n	Murciano Granadina	p
Longitud externa canal (K)	12	43,80 \pm 0,39	12	40,68 \pm 0,39	**
Longitud pierna (F)	12	26,87 \pm 0,22	12	22,86 \pm 0,22	***
Anchura grupa (G)	12	15,11 \pm 0,15	12	12,95 \pm 0,15	***
Perímetro grupa (BG)	12	41,88 \pm 0,23	12	39,25 \pm 0,23	***
Profundidad del tórax (Th)	12	21,22 \pm 0,28	12	18,54 \pm 0,29	***
Perímetro torácico (U)	12	52,26 \pm 0,45	12	47,63 \pm 0,45	***
Anchura art. tarsometatarsiana (OS ₁)	12	2,40 \pm 0,03	9	2,25 \pm 0,03	**
Anchura máxima tarso (OS ₂)	12	3,20 \pm 0,08	12	3,00 \pm 0,08	ns
Índice compacidad canal (PCF/K)	12	0,15 \pm 0,33	12	0,14 \pm 0,15	***
Índice compacidad pierna (G/F)	12	0,57 \pm 0,40	12	0,55 \pm 0,33	ns
Media tarso (OS ₁ + OS ₂ /2)	12	2,84 \pm 0,12	9	2,58 \pm 0,25	*

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$; ns: no significativo

Tabla 3. Medias (\pm desviación típica) y niveles de significación para el efecto de la raza sobre la composición tisular de la espalda (porcentaje). ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$;

	n	Bermeya	n	Murciano Granadina	p
Peso Espalda	12	788,72 \pm 187,24	12	609,97 \pm 73,83	**
%Músculo	12	69,71 \pm 1,72	12	64,62 \pm 1,94	***
% Hueso	12	24,99 \pm 1,77	12	22,68 \pm 1,60	**
% Grasa	Total	5,31 \pm 2,75	12	12,71 \pm 2,59	***
	Subcutánea	1,04 \pm 0,71	12	2,14 \pm 0,91	**
	Intermuscular	2,96 \pm 1,50	12	6,36 \pm 1,34	***
	Preescapular	1,31 \pm 0,83	12	4,21 \pm 1,44	***

CARCASS QUALITY OF BERMEYA GOAT BREED

ABSTRACT. The objective of this study was to evaluate the carcass characteristics, including tissue composition, of kids from Bermeya breed compared with those from (Murciano Granadina). The results show that there are differences in all quality variables analyzed, except the width of the tarsus. The highest values for all variables were consistent with Bermeya, probably due to its greater meat potential. In tissue composition Bermeya had the highest percentage of bone and muscle in the shoulder. On the other hand, fat percentage was much higher in Murciano Granadina because of its dairy purpose. In summary, Bermeya was a breed with less fat and more muscle than Murciano-Granadina, at the studied slaughter weights.

Keywords: Kids, tissue composition, morphology

INFLUENCIA DE LA RAZA Y EL PESO DE SACRIFICIO O EL SISTEMA DE LACTANCIA SOBRE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA CARNE DE CABRITO

Panea, B.¹, Alcalde, M.J.², Ripoll, G.¹, Horcada, A.², Teixeira, A.⁴ y Sañudo, C.³

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agrolimentaria de Aragón. 50059. Zaragoza. bpanea@aragon.es. ² EUITA. Universidad de Sevilla. 41013. Sevilla. ³ Facultad de Veterinaria de Zaragoza. 50013. Zaragoza ⁴ Instituto Politécnico de la Universidad de Bragança (Portugal).

INTRODUCCIÓN

A pesar de que España es el segundo país productor de caprino de la UE, sólo existe en nuestro país una Marca de Garantía y una Marca de Calidad Certificada. Ello se debe, al menos en parte, al escaso interés que esta especie ha despertado en comparación con otras, especialmente la ovina, en la administración e investigadores. Como resultado de lo anterior, hay muy poca información en la bibliografía española sobre la calidad de la canal y de la carne de nuestras razas caprinas. Existe por lo tanto un gran potencial de desarrollo del sector, pero para ello es imprescindible caracterizar adecuadamente el producto que existe en el mercado y las necesidades de los consumidores. Para paliar esta falta de información se desarrolló el proyecto INIA (RTA2006-00177) que ha estudiado la calidad de la canal y de la carne de 7 razas españolas. El presente trabajo es parte del mismo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 7 razas. Como lecheras, Murciano-Granadina (MU) y Malagueña (MA). Como cárnicas, Blanca Andaluza (BA), Blanca Celtibérica (BC), Negra Serrana (NE), Moncaína (MO) y Pirenaica (PI). En las lecheras se utilizaron dos sistemas de lactancia (natural o artificial) y los animales fueron sacrificados para obtener un peso de canal de 4 kg. En las cárnicas se trabajó con dos pesos de canal objetivo, 4 kg ó 7 kg. Se utilizaron 30 animales de cada raza, 15 de cada peso o sistema de lactancia. A las 24 horas post-mortem se extrajeron los músculos *L. thoracis* izquierdos. Una porción se congeló en ese momento y se utilizó para determinar la composición química (AOAC, 1999 y AOCS, 2004). La otra porción se envasó al vacío, se maduró hasta las 72 horas post-mortem, se congeló y se utilizó para determinar el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular (Aldai et al., 2006). Se identificaron 33 ácidos grasos, pero en este trabajo sólo se ofrecen los sumatorios de cada tipo y la relación n6/n3, por su importancia nutricional. Los resultados se analizaron con SPSS 15.0. Se utilizó un GLM con la raza y peso o raza y lactación como efectos fijos. Las diferencias entre medias se estudiaron mediante un test de Duncan ($\alpha=0.05$). Se hizo un análisis discriminante por el método de inclusión por pasos y varianza no explicada con todos los ácidos grasos estudiados y sus ratios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias de cada variable en función del tratamiento se presentan en la Tabla 1. En cuanto a la composición química, la raza no afectó a ninguna de las variables en las razas lecheras y sólo al porcentaje de grasa en las cárnicas, siendo este efecto además significativo sólo para el peso ligero, lo que explica la interacción raza*peso. La PI presentó el mayor porcentaje de grasa a peso ligero y la NE a peso pesado. No se encontró efecto del peso dentro de raza. De forma similar, la lactación sólo afectó al porcentaje de grasa y se encontró también una interacción raza*lactación, de modo que en la Malagueña están más engrasados los cabritos de lactancia natural y en la MU los de artificial. Los resultados encontrados coinciden con los descritos en la bibliografía (Argüello et al., 2005, Bañón et al., 2006, Choi et al., 2006). En cuanto a los ácidos grasos, la raza fue el factor más importante. El peso tuvo un efecto escaso y la lactación, moderado. Se encontraron numerosas interacciones. Las diferencias más importantes entre razas se observaron en el porcentaje de PUFA, que varió entre 16 y 27%. Desde el punto de vista de la nutrición humana, se recomienda que el ratio n6/n3 sea menor de 5 (Raes et al., 2004). En las razas cárnicas todas las muestras dieron valores inferiores a este valor, excepto los animales pesados de la raza MO; en las lecheras todas las muestras superaron ese valor, excepto las de la MU de lactancia natural. La ratio aumentó al hacerlo el peso y fue mayor en lactancia artificial que en natural. Atendiendo únicamente a esta relación, podríamos decir que la carne de los animales de razas cárnicas sería más saludable que la de los animales de razas lecheras. Asimismo, se recomienda que la relación

PUFA/SFA esté alrededor de 0.45 (Webb et al., 2005). Con excepción de la BA, que mostró ratios ligeramente superiores, el resto de las muestras mostraron valores acordes con esta recomendación. Los porcentajes de ácidos grasos descritos en el presente trabajo están en el rango encontrado en la bibliografía (Rhee et al, 2000; Peña et al., 2007). El discriminante (Gráfico 1) explica un 65,5% de la variabilidad encontrada. El eje 1 discrimina la relación n6/n3, especialmente el porcentaje de C18:3n3. El eje 2 lo hace por la proporción de PUFA, especialmente C20:3n3. Es decir, la alimentación determina el perfil de ácidos grasos de la carne de cabrito.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Aldai, N., Osoro, K., Barron, L. J. R., Najera, A. I. (2006). Journal of Chromatography 1110, 133-139. ● AOAC (1999). 16th edition. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA. ● Arguello, A., Castro, N., Capote, J., Solomon, M., (2005). Meat Science 70, 173-179. ● Bañón, S., Vila, R., Price, A., Ferrandini, E., Garrido, M.D. (2006). Meat Science 72, 216-221. ● Choi, S.H., Choy, Y.H., Kim, Y.K., Hur, S.N. (2006). Small Ruminant Research 65, 193-199. ● Pena, F., Perea, J., García, A., Acero, R. (2007). Meat Science 75, 543-550. ● Raes, K., De Smet, S., Demeyer, D. (2004). Animal Feed Science and Technology 113, 199-221. ● Rhee, K.S., Waldron, D.F., Ziprin, Y.A., Rhee, K.C. (2000). Meat Science, 54, 313-318.

Agradecimientos: trabajo financiado por el proyecto FEDER-INIA RTA2006-0177.

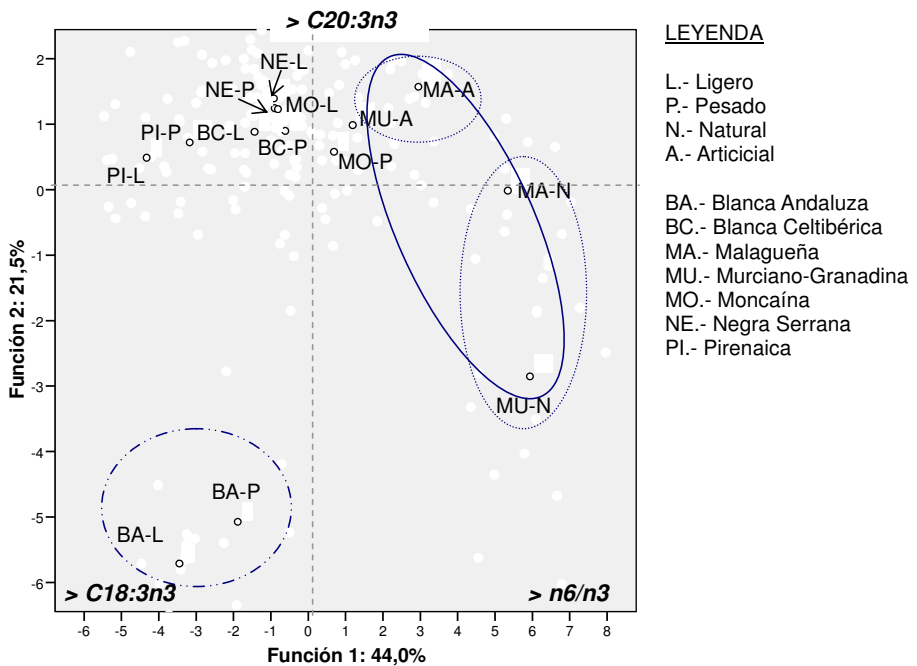


Figura 1. Análisis discriminante de los 14 tipos estudiados: ácidos grasos y sus ratios

Tabla 1. Medias de cada variable en función del tratamiento (raza-peso o raza-lactación)

RAZA	TRATAMIENTO	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)	SFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	n6/n3	
Cármicas	Blanca Andaluza	Ligero (4 kg)	19,5	1,2 b	1,1	42,09 c	32,25	26,65	2,64
		Pesado (7 kg)	21,1 a	1,3	1,1	41,15 d	31,48	27,38	3,20
	Blanca Celtibérica	Ligero (4 kg)	20,7	1,1 b	1,1	44,90 ab	36,23	18,87	2,98
		Pesado (7 kg)	21,0 a	1,3	1,2	47,15 a	38,71	14,14	3,54
	Moncaína	Ligero (4 kg)	24,1	1,6 ab	1,0	45,05 a	36,15	18,80	4,50
		Pesado (7 kg)	21,1 a	1,1	1,1	41,64 cd	35,46	22,89	6,17
	Negra Serrana	Ligero (4 kg)	19,4	1,5 ab	1,1	42,90 bc	38,36	18,74	3,31
		Pesado (7 kg)	19,7 b	1,5 a	1,1	42,81 bc	38,37	18,83	3,54
	Pirenaica	Ligero (4 kg)	22,6	2,1	1,2	43,45 abc	35,56	20,99	2,57
		Pesado (7 kg)	20,4 ab	1,4	1,1	43,26 b	36,88	19,86	3,05
Lecheras	Malagueña	Natural	20,3	1,3 A	1,1	42,51 y	41,23 xA	16,26 B	6,62 xB
		Artificial	19,7	1,0 B	1,1	41,82 y	36,51 xB	21,67 A	14,17 xA
	Murciano-Granadina	Natural	19,7	0,6 B	1,1	44,22 x	35,62 y	20,17	3,58 yB
		Artificial	19,9	1,5 A	1,1	45,15 x	33,46 y	21,40	6,50 yA
Significación (valor de p)	Carne	Raza	0,245	0,012	0,759	0,000	0,000	0,000	0,000
		Peso	0,626	0,368	0,869	0,242	0,366	0,987	0,000
	Leche	R*P	0,273	0,064	0,643	0,000	0,188	0,000	0,214
		Lactación	0,556	0,014	0,668	0,833	0,000	0,002	0,000
		R*L	0,481	0,000	0,518	0,163	0,110	0,044	0,000

a,b, diferencias entre razas dentro de peso; x, y.- diferencias entre razas dentro de lactación, A,B., diferencias entre pesos o lactaciones dentro de raza.

INFLUENCE OF BREED AND SLAUGHTER WEIGHT OR LACTATION SYSTEM ON CHEMICAL COMPOSITION OF KIDS' MEAT

ABSTRACT. On 210 animals from 7 different Spanish goat breeds: five of meat purpose slaughtered at two different weights (4 and 7 kg) and two of milk aptitude reared under artificial or natural milk system and slaughtered at 4 kg were studied. *Longissimus thoracis* muscle was analyzed in proximate chemical composition and fatty acids. Breed effect was not significant in chemical analysis in milk breeds and only fat percentage was affected to the meat breeds. Also, rearing system, in milk aptitude breeds, affected only fat percentage with a significant interaction between both effects. Breed effect was much more important on fatty acid composition than slaughter weight or rearing system, especially in the PUFA group. Both n6/n3 and PUFA/SFA ratios were quite similar to the nutritional recommendations.

Keywords: breed, feed, meat quality, suckling.

INFLUENCIA DE LA RAZA Y EL PESO DE SACRIFICIO O EL SISTEMA DE LACTANCIA SOBRE LA TEXTURA DE LA CARNE DE CABRITO

Panea, B¹., Alcalde, M.J.², Ripoll, G.¹, Horcada, A.², Teixeira, A.⁴, Sañudo, C.³ y Olleta, J.L.³

¹. Centro de Investigación y Tecnología Agrolimentaria de Aragón. 50059. Zaragoza.

bpanea@aragon.es.

². EUITA. Universidad de Sevilla. 41013. Sevilla.³. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. 50013. Zaragoza

⁴. Insituto Politécnico de la Universidad de Bragança (Portugal).

INTRODUCCIÓN

A pesar de que España es el segundo país productor de caprino de la UE, sólo existe en nuestro país una Marca de Garantía y una Marca de Calidad Certificada. Ello se debe en parte al escaso interés que esta especie ha tenido históricamente con relación a otras, especialmente el ovino y precisamente por ello, hay muy poca información en la bibliografía española sobre la calidad de la canal y de la carne de nuestras razas caprinas. Existe por lo tanto un gran potencial de desarrollo del sector, pero para ello es imprescindible caracterizar adecuadamente el producto que existe en el mercado y las necesidades de los consumidores. Para paliar esta falta de información se desarrolló el proyecto INIA (RTA2006-00177) que ha estudiado la calidad de la canal y de la carne de 7 razas españolas. El presente trabajo es parte del mismo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron dos razas lecheras (Murciano-Granadina y la Malagueña) y 5 cárnicas (Blanca Andaluza, Blanca Celtibérica, Negra Serrana o Castiza, Moncaína y Pirenaica). En las lecheras se utilizaron dos sistemas de lactancia (natural o artificial) y los animales fueron sacrificados para obtener un peso de canal de 4 kg. En las cárnicas se trabajó con dos pesos de canal objetivo, 4 kg ó 7 kg. Se utilizaron 30 animales de cada raza, 15 de cada peso o sistema de lactancia. A las 24 horas post-mortem se extrajeron los *L. thoracis* derechos, se envasaron al vacío, se maduraron hasta las 72 horas post-mortem y se congelaron a -20°C. La textura se determinó en crudo con un Instron 4301 y una célula de compresión (Lepetit y Culioli, 1994). Los resultados se analizaron con el paquete SPSS 15.0. Para todas las variables se utilizó un GLM con la raza y peso o raza y lactación como efectos fijos. Las diferencias entre medias se estudiaron mediante un test de Duncan ($\alpha=0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las medias de cada variable en función del tratamiento se presentan en la Tabla 1. La raza tuvo efecto en las razas cárnicas, pero no en las lecheras. El peso afectó al C20 y la lactación al C80 y C100. No existen interacciones entre los efectos. Entre las razas cárnicas, sólo se encontró efecto del peso en la raza Pirenaica, resultando más dura la carne de los animales ligeros que la de los pesados. A peso ligero, la Pirenaica presentó el valor más alto y la Blanca Andaluza el más bajo para el C20, y la Moncaína el más alto y la Blanca Celtibérica y la Negra Serrana los más bajos para el C80. No se encontraron diferencias entre las razas cárnicas a peso pesado ni para el C20 ni para el C80, pero sí para el C100, siendo la Negra Serrana la que presentó los valores más altos. En las razas lecheras, no se observó efecto de la lactación en la Malagueña, pero sí en la Murciano-Granadina, en la que se encontraron valores más bajos de C80 y C100 en lactancia artificial. No existen diferencias entre razas cuando se utiliza lactancia artificial, pero sí en lactancia natural, resultando más dura la carne de la Malagueña que la de la Murciano-Granadina. Argüello et al (2005), trabajando con la raza Majorera no encontraron efecto ni del tipo de lactancia ni del peso (6 ó 10 Kg) sobre la textura de la carne, aunque describen que hubo una tendencia a que la carne de los animales alimentados con lactatorreemplazante fuera ligeramente más dura. En general, los valores obtenidos en el presente trabajo son menores que los encontrados en la bibliografía para diferentes razas. Así, Webb et al. (2005) en una revisión

de distintos trabajos ofrecen valores de entre 40 y 74 N. Posiblemente estas diferencias se deban al hecho de que nosotros hemos trabajado con carne cruda, mientras que en la bibliografía sólo hemos encontrado trabajos sobre carne cocinada. De los resultados obtenidos puede concluirse que la raza es un factor de variación importante de la textura de la carne, la lactación tiene un efecto moderado y el peso tiene un efecto escaso.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Argüello, A., Castro, N., Capote, J., 2003. Calidad de la canal y de carne en cabritos criados mediante lactancia artificial (y 2). *La Cabra* 7, 24-26.
- Lepetit, J., Culioli, J., 1994. Mechanical-Properties of Meat. *Meat Sci* 36, 203-237.
- Webb, E.C., Casey, N.H., Simela, L., 2005. Goat meat quality. *Small Ruminant Res* 60, 153-166.

Agradecimientos: trabajo financiado por el proyecto FEDER-INIA RTA2006-0177.

INFLUENCE OF BREED AND SLAUGHTER WEIGHT OR LACTATION SYSTEM ON KIDS' MEAT TEXTURE

ABSTRACT

Two Spanish dairy breeds (Murciano-Granadina and Malagueña) and five Spanish meat breeds (Blanca Andaluza, Blanca Celtibérica, Negra Serrana, Moncaína and Pirenaica) were used to study meat texture of suckling kids. In dairy breeds two lactation systems (natural or artificial) were used and animals were slaughtered to obtained 4 kg carcasses. In meat breeds animals were slaughtered to obtain carcasses of 4 or 7 kg. Thirty animals per breed were used, 15 of each weight or lactation system. At 24 h post-mortem *L. thoracis* from right carcasses were excised, vacuum packed, ageing until 72 h post-mortem and frozen at -20°C. Texture was determined on raw meat with an Instron 4301 provided with a compression device (Lepetit y Culioli, 1994). Results were analysed with SPSS 15.0. A GLM with breed and weight or breed and lactation as fixed effects and with a Duncan test for differences between means ($\alpha=0.05$). Breed had effect on texture variables in meat breeds but not in dairy breeds. Slaughter weight influenced C20 and lactation system influences C80 and C100. There were not found interactions between effects. In general, values are lower than those found in literature, maybe because the methodology, maybe because of used breed. It can be concluded that breed is more important than slaughter weight or lactation system on meat texture characteristics.

Keywords: *breed, feed, meat quality, suckling.*

Tabla 1. Medias de cada variable en función del tratamiento (raza-peso o raza-lactación)

	RAZA	TRATAMIENTO	C-20 (N/cm ²)	C-80 (N/cm ²)	C-100 (N/cm ²)	
Cárnicas	Blanca andaluza	Ligero (4 kg)	9,68 ^b	67,33 ^{ab}	87,42 ^{ab}	
		Pesado (7 kg)	7,20	64,97	83,11 ^{ab}	
	Blanca Celtibérica	Ligero (4 kg)	10,64 ^{ab}	60,93 ^b	76,02 ^b	
		Pesado (7 kg)	8,43	60,97	77,22 ^b	
	Moncaína	Ligero (4 kg)	12,71 ^{ab}	77,69 ^a	98,24 ^a	
		Pesado (7 kg)	9,31	74,92	97,62	
	Negra Serrana	Ligero (4 kg)	11,63 ^{ab}	63,54 ^{bB}	76,40 ^{bAB}	
		Pesado (7 kg)	10,15	78,23 ^A	100,79 ^{aA}	
	Pirenaica	Ligero (4 kg)	16,02 ^{aA}	72,45 ^{ab}	88,20 ^{ab}	
		Pesado (7 kg)	9,29 ^B	68,54	86,25 ^{ab}	
	Lecheras	Malagueña	Natural	11,29	68,13 ^x	81,82 ^y
			Artificial	13,49	74,50	86,55
Murciano-Granadina		Natural	13,02	55,77 ^{yB}	68,27 ^{yB}	
		Artificial	11,96	74,32 ^A	92,70 ^A	
Significación (valor de p)		Raza	0,130	0,006	0,002	
		Carne	Peso	0,002	0,701	0,316
		R*P	0,406	0,163	0,060	
		Raza	0,959	0,191	0,485	
Leche		Lactación	0,776	0,006	0,002	
		R*L	0,418	0,204	0,066	

a, b, diferencias entre razas dentro de peso; x, y.- diferencias entre razas dentro de lactación, A, B., diferencias entre pesos o lactaciones dentro de raza.

CALIDAD DE LOS COMPONENTES DEL 5º CUARTO EN BOVINOS DE RAZA MIRANDESA.

Teixeira, A., Paulo, N., Pereira, E. y Rodrigues, S.
Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia Apt 1172 5301-855 Bragança, Portugal. teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

De todos los componentes del 5º cuarto de los bovinos, hay aquellos que por ser comestibles adquieren una importancia relativa a la hora de su comercialización. Normalmente en bovinos, de acuerdo con Warriss (2004), el 5º cuarto representa del 47% al 50% del peso vivo, siendo que sus componentes comestibles varían entre 16 a 18%. Por haber un desconocimiento generalizado sobre su composición bromatológica, particularmente en los bovinos de la raza Mirandesa, el presente estudio visa contribuir para la caracterización cualitativa y posible valorización de los componentes comestibles del 5º cuarto.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio utilizó 80 animales con edades comprendidas entre 8 y 10 meses, de diferentes rebaños de bovinos de la raza Mirandesa, subdivididos en 3 grupos (A – peso vivo (PV) entre 114 y 221 kg; B – PV entre 222 y 261 kg y C – PV entre 262 y 393 kg; con 27, 26 y 27 animales, respectivamente). Se utilizaron los registros correspondientes al peso vivo (PV), peso canal (PC), pesos víscera blancas (VB) (patas y callos) y despojos o vísceras rojas (VR) (lengua, hígado, riñones, pulmón y corazón). De cada grupo se seleccionaron 3 muestras representativas, que después de trituradas y homogenizadas, sirvieron para retirar 3 sub-muestras, para realizar los siguientes análisis, con tres repeticiones: proteína total (PT) por el método *Kjeldahl*, grasa total (GT) en el *Soxhlet* y perfil de ácidos grasos (AG) por cromatografía de gases (AOAC *Buchi-Extraction Unit B-815*). Se procedió a una análisis de varianza del efecto subgrupo para todas las variables estudiadas usando el programa JMP-SAS y las medias estimadas por cuadrados mínimos (LSM) se compararon por el test de Bonferroni/Dun.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los valores medios y desviación estándar del peso vivo, peso canal, rendimiento comercial y de los componentes del 5º cuarto, en función de los tres grupos de bovinos mirandeses estudiados. Tal como era de esperar, se verifica un aumento significativo del rendimiento con el aumento del peso al sacrificio, confirmando lo indicado por Kempster et al. (1982). El peso de todos los órganos es similar al presentado por Ockerman y Basu (2004) para los componentes comestibles (hígado, corazón, lengua, riñones y callos) de los bovinos. El peso de los componentes del 5º cuarto aumenta con el peso de canal, a excepción del peso de los callos y del hígado. En relación a la composición química de los componentes del 5º cuarto estudiados (Tabla 2), el contenido en proteína y grasa están generalmente de acuerdo con los valores citados en la bibliografía, destacándose solamente el contenido en proteína de los callos superior a los 13% indicados por Kiernat et al. (1964). Todos los demás presentan valores dentro de los rangos indicados por Anon (1974) Ockerman (1996) y también por Ockerman y Hansen (2000) cuyos contenidos en grasa y proteína son variables con el peso, edad y sistema de producción. Del contenido en grasa se destaca el elevado porcentaje de grasa saturada de la lengua y monoinsaturada en la lengua y patas comparativamente a los demás órganos. El perfil de ácidos grasos mayoritarios, siempre que presentes en por lo menos uno de los grupos, con valores superiores a 1 g/100 g de muestra, expresados en % en la Tabla 3, confirman el

elevado porcentaje de ácido oleico en la lengua (4,9 – 13.1%); patas (3,4 – 7,7%) y corazón alrededor del 3%, asimismo inferiores al contenido presentado por Renon et al. (1980).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

● Anon, 1974. *The Nutritive value of meat and other protective foods*. The National Live Stock and Meat Board. ● Kempster, A.J., Cuthbertson A. and Harrington, G., 1982. *Carcass Evaluation in livestock breeding, production and marketing*. Granada Publishing Limited. Kiernat, B.H., Johnson, J. A. and Siedler, A.J., 1964. *Summary of the nutrient content of meat*. Am. Meat Inst. Found Bull. ● Ockerman, H W, 1996. *Chemistry of meat tissue*. 11th edn. Columbus, OH: The Ohio State University. ● Ockerman, H W. and Hansen, C L., 2000. *Animal By-product processing and utilization*. Lancaster, PA: Technomic ●Ockerman, H W and Basu, L., 2004. *By-Products. Edible, for human consumption*. In *Encyclopedia of Meat Sciences*. Vol. one. Eds. Werner K. Jensen, Carrick Devine and Michael Dikeman. Elsevier Academic Press. ● Renon, P., Comi, G., Cantoni, C and Persiani, G., 1980. Acidi grassi del grasso d'organi di animali domestici. *Industria Alimentari* 19 (6): 507-510. ● Warriss, P.D., 2004. *Meat Science. An Introductory Text*. Cabi Publishing.

QUALITY OF BOVINE FIFTH QUARTER COMPONENTS OF MIRANDESA BREED

ABSTRACT. This study aims to contribute to the qualitative characterization and possible recovery of the edible components of the 5th quarter. Eighty animals aged between 8 and 10 months, from different herds of Mirandesa cattle were divided into 3 groups (A - body weight (BW) between 114 and 221 kg; B - PV between 222 and 261 kg and C - PV between 262 and 393 kg). Records have been collected for body weight (PV), carcass weight (PC), Gut weight (VB) (feet and tripe) and offal or internal organs (VR) (tongue, liver, kidney, lung and heart). In each group 3 samples were selected as representative of the 3 groups to proceed to the following tests: total protein (TP), total fat (GT and profile of fatty acids). It was observed a significant increase in yield with increasing slaughter weight. The protein and fat content of organs are generally according with the values cited in the literature. Results confirmed the high percentage of oleic acid on the tongue (4.9 - 13.1%), legs (3,4 - 7.7%) and heart around 3%.

Keywords: *cattle, live weight, carcass weight, 5th quarter, protein, fatty acid*

Tabla 1. Valores medios del peso (kg) vivo, canal y de los componentes del 5º cuarto.

Variable	Grupo A	Grupo B	Grupo C	F	P
PV	178,2±26,0 ^a	240,2±12,5 ^b	297,9±35,4 ^c	137,74	≤0,0001
PC	94,2±17,2 ^a	129,8±8,6 ^b	161,7±20,4 ^c	116,96	≤0,0001
Rend. (%)	55,8±2,3 ^a	57,5±2,1 ^b	59,7±2,1 ^c	21,67	≤0,0001
Callos	6,0±1,8	5,5±2,4	5,0±1,4	2,14	NS
Patatas	5,1±0,5 ^a	6,4±0,4 ^b	7,5±0,7 ^c	137,54	≤0,0001
Lengua	0,7±0,1 ^a	0,9±0,2 ^b	1,0±0,2 ^c	23,42	≤0,0001
Hígado	2,7±0,5	3,4±0,3	3,9±0,4	0,19	NS
Corazón	0,9±0,1 ^a	1,1±0,1 ^b	1,2±0,2 ^c	21,15	≤0,0001
Pulmón	2,5±0,7 ^a	3,6±0,9 ^b	4,5±0,9 ^c	38,16	≤0,0001
Riñón	0,5±0,1 ^a	0,6±0,2 ^a	0,8±0,1 ^b	18,38	≤0,0001

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas, con mínimo P≤0,0001; NS no significativo

Tabla 2. Valores medios de PB, CZ, GT y % ácidos grasos de componentes del 5º cuarto.

Variable	Grupo	PB %	GT g/100g	Saturados	Moninsat.	Polinsat.
Callos	A	16,1±0,5 ^a	3,0±0,4	0,9±0,07 ^a	0,6±0,03 ^a	
	B	18,2±0,5 ^b	3,4±0,4	1,4±0,07 ^b	0,8±0,03 ^b	
	C	20,4±0,5 ^c	3,2±0,4	1,1±0,07 ^c	0,7±0,03 ^b	
Patas	A	24,7±0,8 ^a	5,3±0,9 ^a	2,2±0,13 ^a	4,2±0,1 ^a	0
	B	22,4±0,8 ^b	8,4±0,9 ^b	4,4±0,13 ^b	9,5±0,1 ^b	0,44±0,05
	C	21,4±0,8 ^b	3,9±0,9 ^c	3,0±0,13 ^c	8,9±0,1 ^c	0,43±0,05
Lengua	A	13,5±0,8 ^a	16,4±0,4 ^a	6,1±0,15 ^a	5,8±0,06 ^a	0,38±0,05 ^a
	B	10,4±0,8 ^b	37,1±0,4 ^b	14,2±0,15 ^b	15,5±0,06 ^b	2,3±0,05 ^b
	C	14,4±0,8 ^a	24,0±0,4 ^c	10,1±0,15 ^c	9,4±0,06 ^c	1,3±0,05 ^c
Hígado	A	18,7±0,3 ^a	6,3±0,3	1,7±0,05	0,8±0,06	1,2±0,06
	B	17,8±0,3 ^b	6,1±0,3	1,7±0,05	0,7±0,06	1,2±0,06
	C	19,7±0,3 ^c	5,6±0,3	1,7±0,05	0,8±0,06	1,2±0,06
Corazón	A	15,7±0,3 ^a	6,4±1,1 ^a	1,8±0,25 ^a	1,1±0,1 ^a	0,8±0,09 ^a
	B	16,3±0,3 ^a	15,1±1,1 ^b	5,5±0,25 ^b	3,9±0,1 ^b	2,5±0,09 ^b
	C	18,4±0,3 ^b	14,1±1,1 ^c	4,8±0,25 ^b	3,4±0,1 ^b	2,6±0,09 ^b
Riñones	A	14,8±0,7 ^a	5,4±0,9	1,2±0,15	0,7±0,04 ^a	0,7±0,1
	B	16,0±0,7 ^{ab}	5,1±0,9	1,0±0,15	0,4±0,04 ^b	0,7±0,1
	C	16,8±0,7 ^b	4,6±0,9	1,1±0,15	0,5±0,04 ^b	0,6±0,1
Pulmón	A	16,0±0,8	3,6±0,7	0,9±0,17 ^a	0,6±0,04 ^a	0,2±0,1
	B	17,1±0,8	4,9±4,9	1,1±0,17 ^b	0,5±0,04 ^a	0,3±0,1
	C	18,3±0,8	5,4±5,4	1,5±0,17 ^b	1,0±0,04 ^b	0,2±0,1

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, con mínimo $P \leq 0,01$

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos (%) en patas, lengua y corazón.

	Grupo	C16	C16:1	C18	C18:1	C18:2
Patas	A	1,3±0,03 ^a	1,25±0,03 ^a		3,4±0,14 ^a	
	B	2,8±0,03 ^b	1,40±0,03 ^b		7,7±0,14 ^b	
	C	2,2±0,03 ^c	1,31±0,03 ^{ab}		7,2±0,14 ^b	
Lengua	A	3,3±0,1 ^a	0,6±0,1 ^a	1,9±0,06 ^a	4,9±0,08 ^a	0,8±0,06 ^a
	B	8,0±0,1 ^b	1,7±0,1 ^b	3,0±0,06 ^b	13,1±0,08 ^b	1,8±0,06 ^b
	C	5,4±0,1 ^c	1,2±0,1 ^c	2,6±0,06 ^c	7,8±0,08 ^c	1,1±0,06 ^c
Corazón	A	0,8±0,09 ^a		0,7±0,08 ^a	0,9±0,09 ^a	0,5±0,1 ^a
	B	2,3±0,09 ^b		2,4±0,08 ^b	3,3±0,09 ^b	1,8±0,1 ^b
	C	1,9±0,09 ^c		2,0±0,08 ^c	3,0±0,09 ^b	1,8±0,1 ^b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, con mínimo $P \leq 0,01$

CALIDAD QUÍMICA DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS

Oliveira, A. F., Rodrigues, S., Pereira, E., Paulos, K. y Teixeira, A.

Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia Apt 1172 5301-855 Bragança, Portugal. teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de valorizar animales de peso fuera de las características exigidas por las marcas DOP de "Codeiro Bragançano" y "Cabrito Serrano", se desarrolló un proyecto de estudio de producto procesado con base en canales de ovino y caprino de bajo valor comercial. Con este fin fueron obtenidas "mantas" de canales, que después fueran saladas y secas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dieciséis hembras, ocho cabras de la raza Serrana y ocho ovejas de la raza Churra Galega Bragançana, del rebaño de la Escuela Superior Agraria de Bragança, con un peso medio de $20 \pm 1,9$ kg, fueron sacrificadas en el matadero comercial de Bragança. Las canales fueron refrigeradas a 4°C durante 4 días. Después fueron transportadas al laboratorio de Tecnología y Calidad de la Canal y de la Carne de la Escuela Agraria de Bragança, en las condiciones necesarias para tal fin y se dividieron en cuatro partes (dos delanteros y dos traseros). Se deshuesaron, eliminando los huesos mayores y las vértebras, dejando solamente las costillas, para conseguir una *manta* de carne. Las *mantas* fueron saladas con una concentración de 20% de NaCl durante 72 horas a una temperatura constante de 4°C y realizándose cada 12 horas un proceso de "tombagem".

Al final del proceso de salazón, con la ayuda de escobillas, se retiró el exceso de sal que se depositaba en la superficie. A continuación, las mantas fueron colgadas en una sala ventilada y con temperatura alrededor de 10°C durante un período de 72 horas.

En este estudio se determinó la concentración de pigmentos hemínicos, por espectroscopia, en el *musculo longissimus thoracis et lumborum* segundo Hornsey (1956); el índice de oxidación (NP 3356:2009), el nitrógeno total (PRNP 1612:2002), la extracción de los ácidos grasos (Determinación de grasa BUCHI B-820, AOAC INTERNACIONAL PVM 4:1997), la determinación de la humedad (NP 1614:2002) y la determinación de cenizas totales (NP 1615:2002).

Para estudiar el efecto de la especie y de la maduración en las características de la carne salada se realizó un análisis de varianza, utilizando la versión 2011 del programa XLSTAT, un complemento para Microsoft Office Excel 2007.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestran los resultados del análisis de la grasa intramuscular de la carne salada para ambas especies, y se pudo observar una diferencia altamente significativa ($p \leq 0,001$) en el porcentaje de grasa total entre las especies, con valores medios de 15,76% y 9,27% para ovejas y cabras, respectivamente. Se evidencian diferencias muy significativas ($p \leq 0,001$) para los ácidos grasos saturados (SFA), poliinsaturados (PUFA), y monoinsaturados (MUFA), con valores medios de SFA de 6,58% y 3,69, de ácidos grasos poliinsaturados de 6,23 y 3,74% y 1,11 y 0,54 para los MUFA, para las ovejas y las cabras, respectivamente.

En la Tabla 2 se muestra el perfil de ácidos grasos saturados para ambas especies, en particular, C4 (ácido butírico), C8 (ácido caprílico), C10 (ácido cáprico), C12 (ácido láurico), C14 (ácido mirístico), C16 (ácido palmítico), C18 (ácido esteárico) y C22 (ácido beénico). Se destaca un mayor porcentaje del C16 y del C18 en ambas especies. Con respecto al C16, se encontró que el efecto de la especie fue significativo ($p \leq 0,01$), con un valor medio de 2,93 para las ovejas y 1,79 para las cabras. El mismo efecto se observó para el C18, con una significación de $p \leq 0,001$, y los valores medios de 2,35 y 1,02 para las ovejas y las cabras, respectivamente. Para el resto de ácidos grasos SFA no se encontraron diferencias significativas entre especies ($p \geq 0,05$).

En cuanto al MUFA para ambas especies, analizando la Tabla 3, se destaca el C18:1 (ácido oleico) con valores medios de 5,45 para ovinos y 3,20 para caprinos con un nivel de significación de $p \leq 0,001$. Para el C16:1 (ácido palmítico) no se verificaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$), siendo los valores medios para las ovejas de 0,54 y 0,39 para las cabras. El ácido graso poliinsaturado, C18:2 (ácido linoleico) con valores medios de 1,11 para las ovejas fue significativamente mayor al encontrado para las cabras de 0,44. Lo mismo se verificó en relación al ácido linoléico (C18:3) con valores de 0,27 a 0,03 para las ovejas y cabras.

En la Tabla 4, están las medias para las variables del análisis química estudiadas de cada especie, se encontró que para el porcentaje de proteína, cenizas, mioglobina, y también nivel de oxidación no se encontraron diferencias significativas ($p \geq 0,05$). Los valores encontrados de las tasas de oxidación en el ganado ovino (2,16 mg/kg malondialdehído) fueron inferiores a los obtenidos por Sobrinho et al (2004) (3,58 mg / kg de aldehído malónico). Solamente el porcentaje de humedad mostró diferencias muy significativas, con un valor medio de 44,49% y 50,95% siendo estos valores coherentes con los descritos por Babiker et al. (2003) y Sobrinho et al. (2004), respectivamente para las ovejas y cabras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Silva Sobrinho, Américo García da; Zeola, Nivea Maria Brancacci Lopes; Souza, Hirasilva Borba Alves de y Lima, Tânia Mara Azevedo de, 2004. La calidad de la carne de ovino en el proceso de salazón Ciênc. Tecnol. Aliment. [online]. vol. 24, n.3, pp. 369-372. ISSN 0101-2061.
- Babiker, S.A. El Khider I.A, Shafie, S.A. 1990. Composición química y calidad de los atributos de carne de cabra y el cordero, Meat Science, vol.28, n.4, pp.273-277.

Tabla 1. Efecto de la especie en la grasa de la carne salada

	Grasa total	SFA	PUFA	MUFA
Ovino	15,76±1,03	6,58±0,43	6,23±0,44	1,11±0,08
Caprino	9,27±1,46	3,69±0,61	3,74±0,63	0,54±0,11
Significancia	***	***	***	***

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Tabla 2. Efecto de la especie en el perfil en ácidos grasos saturados de la carne salada

	C4	C8	C10	C12	C14	C16	C18	C22
Ovinos	0,03± 0,01	0,13± 0,01	0,06± 0,02	0,06± 0,01	0,48± 0,04	2,93± 0,24	2,35± 0,18	0,01± 0,01
Caprinos	0,03± 0,02	0,01± 0,01	0,06± 0,02	0,05± 0,02	0,40± 0,06	1,79± 0,34	1,02± 0,261	0,00± 0,01
Significa.	NS	NS	NS	NS	NS	**	***	NS

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Tabla 3. Efecto de la especie en el perfil en ácidos grasos mono y poliinsaturados de la carne salada

	C16:1	C18:1	C18:2	C18:3	C20:4
Ovino	0,54±0,11	5,45±0,39	1,11±0,19	0,27±0,04	0,03±0,01
Caprino	0,39±0,15	3,20±0,55	0,44±0,27	0,03±0,06	0,01±0,01
Significancia	NS	***	**	***	NS

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Tabla 4. Efecto de la especie en las características químicas de la carne salada

	% Proteína	% Humedad	% Ceniza	I. Oxidación ¹	DO*8.82 512nm
Ovino	23,93±1.80	44,49±0.70	1,01±0.20	2,16±0.23	4,84±0.28
Caprino	23,99±1.67	50,95±1.09	0,64±0.28	1,87±0.33	5,29±0.43
Significancia	NS	***	NS	NS	NS

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

DO*8.82 – corresponde a mg de la mioglobina/g músculo fresco.

¹ Los resultados están expresados en mg de aldehído malónico/kg

SHEEP AND GOAT SALTY AND DRY MEAT CHEMICAL QUALITY

ABSTRACT. Nowadays the market search for sheep and goats with an average carcass weight between 5 and 6 kg. This trend despises animals with higher body weights, entitled of spoilage which creates difficulty for producers sells. Female sheep and goat carcasses weighing more than DOP weigh were used for chemical analysis with a maturity of four days at 4°C, followed by a salting process and subsequent drying in order to study the effect of the salting process and consequently develop a new processed product with a commercial added value. In salted meat the chemical characterization was done. With this experiment it is possible to conclude that goat meat presented less total fat, SFA, MUFA and PUFA in comparison to sheep meat. Also goats presented significantly less C16, C18, C18:1, C18:2 and C18:3 than sheep. Goat meat had more moisture percentage than sheep meat, but the other variables evaluated showed no significant differences between species.

Keywords: *sheep, goat, meat, new processed product*

CALIDAD FÍSICA DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS

Paulos, K, Rodrigues, S., Pereira, E., Oliveira, A. F. y Teixeira, A.

Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia Apt 1172 5301-855 Bragança, Portugal. teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

De los distintos parámetros físicos que se estudian, la evaluación del color es muy importante para determinar la calidad de la carne. Hay varios factores que pueden afectar el color de la carne (sexo, raza, edad, dieta del animal), especialmente el tiempo de maduración, y procesos de deshidratación a que son sometidas las canales. Otros parámetros físicos asociados al color son el pH, la capacidad de retención de agua (CRA), la textura y la actividad del agua (a_w). Con el fin de valorar los animales de desecho y animales fuera de la marca DOP, se estudió un proceso de salado y secado, de carne de ovino y caprino (Churra Galega Bragançana y Serrana, respectivamente) deshuesada, formando una manta de carne. Así, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del salado y secado en las características físicas de la carne, concretamente: el pH, la actividad de agua (a_w), la capacidad de retención de agua (CRA), la textura y el color.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 16 animales, ocho cabras de la raza Serrana y ocho ovejas Churra Galega Bragançana, del rebaño de la Escuela Superior Agraria de Bragança, sacrificados en el matadero comercial de Bragança. El peso medio en canal fue de $20 \pm 1,9$ kg. Veinticuatro horas después del sacrificio, con un electrodo de penetración de un potenciómetro portátil, calibrado, fue medido el pH entre la 1ª y 2ª vértebra lumbar de cada canal, que, después, fueron refrigeradas a 4°C durante 4 días. Las canales fueron transportados al laboratorio de Tecnología y Calidad de Carne y Canal de la Escuela Agraria de Bragança, con las condiciones necesarias para tal fin y fueron escindidas en cuatro partes. Se midió el color físico de la carne por lo método de CIE Lab y se tomaron muestras en la parte delantera y trasera del musculo *semimembranosos* y m. *subescapular* para la medición de la a_w en los puntos anatómicos debidamente identificados. La CRA se evaluó de acuerdo con el método de Honikel (1987) en una porción del m. *longissimus thoracis et lumborum* libre de grasa. Con la misma porción del músculo cocido, se determinó la textura (Kgf) en un texturómetro INSTRON equipado con una célula "Warner-Bratzler". Las canales fueron deshuesadas, eliminando los huesos largos y vértebras, manteniendo las costillas para conseguir una manta, y sometida a un proceso de salado con 20% de NaCl, igualmente distribuido, durante 72 horas a una temperatura de refrigeración de 4°C. A intervalos de 24 horas se llevó a cabo el proceso de "tombagem". Al final, fue eliminado el exceso de sal, con la ayuda de escobillas. Más tarde, las piezas de carne salada fueron suspendidas en ganchos en una sala ventilada y con una temperatura constante de 10°C durante un periodo de 72 horas. Completado el proceso de secado, se midió el color y se tomaron muestras para determinación de la a_w . Para estudiar el efecto de la especie y de la maduración en las características físicas de la carne salada, se realizó un análisis de varianza usando la versión 2011 del programa XLSTAT, un complemento para Microsoft Excel 2007 Office.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 muestra las diferencias entre ovejas y cabras en características físicas de la carne fresca. El valor medio de pH fue de 5,7 y 5,8, de acuerdo con los valores descritos por Teixeira et al. (2005 y 2010), para las ovejas y cabras, respectivamente, sin notar diferencias significativas entre las dos especies. La CRA fue de 29,91% a 25,34%, respectivamente para ovejas y cabras, y no se registraron diferencias significativas. La textura fue ligeramente más baja para las ovejas - con un valor próximo al encontrado por Teixeira et al. (2005) - que para las cabras, un valor menor al encontrado por Teixeira et al. (2010_a). En la

Tabla 2 se presentan los resultados de los efectos de la especie y de la maduración en la a_w . En carne fresca la a_w , de la carne de ovino fue significativamente inferior a la de caprino, con valores medios de 0,94 a 0,98, respectivamente, valores similar a los encontrados por Teixeira et al. (2010_b). Para la a_w en el final del proceso de secado se obtuvieron valores medios y estadísticamente diferentes de 0,76 a 0,86 para las ovejas y las cabras, conforme Teixeira et al. (2010_{a,b}). En las Tablas 3 y 4 son presentados los valores de las coordenadas del color físico en carne fresca de las ovejas y cabras en los tiempos de maduración 1 y 2 (M1, M2) y la interacción entre estos dos factores. En la tabla 3, para las especies, y para todos las variables (L^* , a^* , b^* , H^* y C^*), se verificó que las ovejas tienen valores significativamente mayores que las cabras. En cuanto al parámetro L^* hay una disminución en ambas especies de M1 para M2, lo que significa una reducción del brillo de la carne durante el proceso de maduración. Los valores de la variable a^* también disminuyeron, lo que significa una reducción de carne roja durante el proceso de maduración. La medida del croma, un atributo que se define por la interacción entre el valor a^* y b^* también se redujo considerablemente durante la maduración. Los valores de H^* fueron siempre inferiores a C^* . En cuanto al efecto de las especies se encontró que la diferencia no es significativa para los parámetros L^* y a^* y es muy significativa para b^* y H^* , y C^* . El efecto del tiempo de maduración fue importante y significativo en todos los parámetros. La interacción de los dos no es significativa para el parámetro a^* ligeramente significativa para b^* y C^* , altamente significativa para el valor L^* y H^* . Analizando el efecto de la especie, en la tabla 4, se verificó que era contrario a la tabla 3 para el parámetros L^* , a^* , b^* y C^* , las cabras presentan mayores valores que las ovejas. En cuanto al parámetro L^* hay una disminución en ambas especies de M1 a M2, al igual que el color en carne fresca, y se produjo una disminución del color de carne fresca (al inicio) comparada con carne salada (al final). En cuanto al parámetro a^* , los valores disminuirán de M1 a M2, y es una disminución drástica en relación con el color original, (M1 = 16,87 cabras inicial y final M1 = 4,61). El valor de la interacción entre a^* y b^* también se redujo significativamente entre M1 y M2. Los valores del H^* fueron siempre superiores a C^* , lo que indica una disminución del color vivo de la carne. En cuanto al efecto de las especies se encontró que la diferencia es muy significativa para el parámetro L^* , significativa para el a^* , y no es significativo para b^* , H^* y C^* . Para el efecto de los tiempos de maduración se encontró que las diferencias son muy significativas para los parámetros a^* , b^* y C^* significativas para L^* .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Honikel, K. O., 1987. How to measure the Water-Holding Capacity of meat? Recommendation of Standardized methods. In: Evaluation and control of meat quality in pigs. *Martinus nijhoff publishers*, Dordrecht, 129-142.
- Teixeira, A., Batista, S., Delfa, R., Cadavez, V., 2005. Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight. *Meat Science*, v.71,p.530-536.
- Teixeira, A., Rodrigues, M., Pereira, E. Rodrigues, S, 2010a. The quality of a new sheep meat product. Effect of salting and ageing process. Book of Abstracts, EAAP, No. 16: 125
- Teixeira, A., Gonçalves, I., Pereira, E., Rodrigues, S., 2010b. Goat meat quality. Effects of salting, air-drying and ageing processes. Proceedings of 10th International Conference on Goats. Recife- Pernambuco. CD rom

Tabla 1. Efecto de la especie en características físicas de la carne fresca

	pH 24h	CRA	Textura (Kgf)
Ovinos	5,70±0,05	29,91±1,50	7,49±0,23
Caprinos	5,82±0,07	25,34±2,27	8,28±0,35
Significancia	NS	NS	*

Tabla 2. Efecto de la especie y de la maduración en la actividad de agua de la carne

aW	Ovinos M1	Ovinos M2	Caprinos M1	Caprinos M2	Ef. especie	Ef. maduración	Interacción
Fresca	0,91±0,02	0,96±0,01	0,98±0,01	0,97±0,00	***	***	***
Salada	0,75±0,01	0,77±0,03	0,88±0,02	0,83±0,02	***	***	***

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Tabla 3. Efecto de la especie y de la maduración en el color física de la carne fresca

	L*	a*	b*	H*	C*
Ovinos M1	34,83±2,93	16,56±2,29	10,11±1,18	31,44±2,41	180,17±44,27
Ovinos M2	30,62±2,93	14,33±2,29	6,19±1,40	23,33±3,07	97,57±30,53
Caprinos M1	32,60±2,94	16,87±2,29	7,53±1,92	24,07±4,43	139,93±43,87
Caprinos M2	31,73±2,94	13,93±2,29	5,47±1,77	21,60±2,67	89,27±37,79
Ef. Especie	NS	NS	***	***	*
Ef. Maduración	***	***	***	***	***
Interacción	**	NS	*	***	*

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

Tabla 4. Efecto de la especie y de la maduración en el color física de la carne salada y seca

	L*	a*	b*	H*	C*
Ovinos M1	28,95±3,13	4,53±1,45	6,37±2,47	53,73±5,00	31,91±18,47
Ovinos M2	28,32±2,24	3,45±1,02	4,8±1,44	53,94±6,27	17,86±9,59
Caprinos M1	31,63±3,91	4,61±1,60	6,30±1,95	53,42±8,10	31,07±19,74
Caprinos M2	30,98±3,91	4,09±1,18	5,59±1,74	53,02±7,59	24,19±12,63
Ef. Especie	***	*	NS	NS	NS
Ef. Maduración	*	***	***	NS	***
Interacción	***	***	***	***	***

* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$

PHYSICAL QUALITY OF DRY AND SALTED MEAT OF SHEEP AND GOAT

ABSTRACT. The main objective was to create a new product giving a new value to the oldest sheep and goat considered as spoilage, which has a low commercial value. So, a process of salting and drying boneless meat was studied in these animals (eight breed Serrana goats and eight breed Churra Galega Bragançana sheep) In this product several tests were made to determine the effect of salting and drying on the physical properties of the carcass, such as pH, water activity (aw), colour, texture and water holding capacity (WHC). Analyses of variance were conducted to study the effect of species and ageing on physical characteristics of salted meat. Investigation of physical characteristics by specie and maturation in fresh, salted and dried meat confirmed that goats meat was tougher, and had higher aW, while sheep's have much more sparkly color than goats. On the effect of aging, meats that have fewer days of maturation, have more intensive color, brighter. Salting was the feature that has appreciably influence in C* and H* values, rising the values of H* and drastically reducing the values of C*. It can be concluded that this process led to a darker meat.

Keywords: goat, sheep, ageing, product

ANÁLISIS SENSORIAL DE CARNE SECA Y SALADA DE OVINOS Y CAPRINOS

Rodrigues, S, Paulos, K., Pereira, E., Oliveira, A. F., y Teixeira, A.

Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia Apt 1172 5301-855 Bragança, Portugal. teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

Una de las limitaciones de la producción de ovejas y cabras en Portugal es qué hacer con los animales de desvieje. Con el propósito de asignarle un valor añadido a este producto se estudió un proceso de transformación, el salado y secado de cuatro partes de la canal deshuesada (dos delanteros y dos traseros) con la finalidad de obtener una manta de carne. Aunque muchos estudios han señalado la influencia de las características nutritivas en la elección de alimentos, las propiedades sensoriales también son muy importantes para la aceptabilidad de la carne. Sin embargo, a menudo, las variables de preferencia se incluyen en los estudios de fichas descriptivas, mientras que en otros estudios se examinan las diferencias entre los productos sólo en términos de aceptación general (Risvik, 1994). El análisis sensorial realizado por catadores capacitados es la herramienta más adecuada para explicar las diferencias entre los tratamientos percibidas por los seres humanos. Así, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la especie y partes de la canal en la caracterización sensorial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos se obtuvieron de 13 ovejas Churra Galega Bragançana, y 10 cabras Serranas de desvieje, del rebaño de la Escuela Superior Agraria de Bragança (ESAB). Estos animales pastan en el campo, con un suplemento de heno y paja. Los animales fueron sacrificados en el matadero de Bragança, se obtuvieron canales de animales ovinos y caprinos con un peso medio de 20 kg. Las canales fueron mantenidas en refrigeración a 4°C durante 4 días. En el Laboratorio de Tecnología y Calidad de la Canal y la Carne de la ESAB, las canales fueron divididas en delanteras y traseras, y deshuesadas de todos los huesos largos y vértebras, manteniendo las costillas, con el fin de obtener una manta de carne, que fue después salada y secada, conforme los procedimientos descritos por Teixeira et al (2010). Posteriormente se hizo el análisis sensorial de las muestras de carne, por un panel de catadores con 10 elementos, debidamente seleccionados y entrenados conforme a las normas portuguesas. Las muestras se envolvieron individualmente en papel de aluminio y cocidas en el horno hasta que la temperatura interna alcanzó aproximadamente 75°C (NP-ISO-8586-1, 2001). Una vez cocida, la carne salada fue dividida en muestras de 2x2x0,5 cm, en papel de aluminio, marcado con códigos aleatorios de 3 dígitos y colocadas en un horno precalentado a 60-70°C y evaluadas.

Los catadores se sentaron al azar en cabinas individuales en una habitación con temperatura y luz controlada. En todas las sesiones la temperatura ambiental fue entre el 18 y 20°C con 60-70% de humedad y cabinas iluminadas con luz roja. Los catadores evaluaron cada muestra para los siguientes atributos sensoriales: intensidad de olor, presencia de olor extraño, intensidad de *flavour*, presencia de *flavour* extraño, jugosidad, dureza, fibrosidad, intensidad de sabor dulce y aceptabilidad general, utilizando una escala estructurada pero no numerada de 10 cm en que los extremos representan el mínimo (ausencia de sensibilidad) y el máximo (sentido extremadamente intenso). La evaluación sensorial consistía en cuatro sesiones. En cada sesión, los catadores evaluaron muestras correspondientes a 4 tratamientos, relativas a la especie y la ubicación de manta, por duplicado. Las muestras al azar se presentaron en cada período de sesiones. El diseño experimental fue un plan factorial con 2 especies y dos partes de la canal (delantero y trasero) como efectos fijos. Se utilizó para el Análisis Procrustea Generalizada (APG) para reducir al mínimo las diferencias entre los catadores. Se combinaron como matrices de datos de 4 (muestras de carne) por 9 (parámetros sensoriales) por 10 expertos para buscar consenso mediante el software XLSTAT versión demo 2011, un complemento de Microsoft Office Excel.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los catadores produjeron un perfil de 9 términos utilizados para describir las diferencias entre los productos. Como se trata de un panel de catadores, las evaluaciones fueron

similares. De hecho, el análisis de cada catador muestra bajos niveles de variación, lo que confirma la fiabilidad del Panel (Tabla 1). Sin embargo, ningún entrenamiento alcanza varianza de cero entre asesores (Stone y Sidel (1975) citados por Carlucci et al (1998)). Otra dificultad del análisis sensorial, llevado a cabo por personas es que algunos tienden a usar una escala mayor, mientras que otros utilizan sólo una parte más estrecha de la escala. Como se puede observar por los factores de transformación de escala mayores que uno, en la Tabla 1, los catadores 3, 4, 5, 6 y 8 tienden a usar una gama más amplia de la escala. Los residuos por tipo de carne presentaron valores entre 4,3 y 6,0, siendo que los delanteros de de cabra presentaron un menor valor, por lo tanto, fueron los más consensuales. En general, los valores de los residuos por objeto no fueron muy altos. Para minimizar las diferencias entre los asesores del panel, se utilizó una APG para encontrar un consenso (Figura 1). Los primeros dos ejes de la configuración de consenso explican 83,3% de variación total entre muestras, un valor menor que es el 93% registrado por Rodrigues y Teixeira (2009) en cabritos Serranos. La correlación entre los parámetros sensoriales y factores (Figura 1) indica que el olor, la presencia de olor extraño, la intensidad del sabor y jugosidad están alta y negativamente correlacionadas con el factor 1, mientras la dureza, la fibrosidad y la intensidad de sabor dulce se correlacionan alta y positivamente con el mismo factor/eje. La figura 1 muestra la representación conjunta de la configuración de consenso donde se observan las coordenadas de los objetos (muestras de carne) después del examen de componentes principales y la correlación entre los parámetros sensoriales y las primeras dos dimensiones. Se puede apreciar una gradación de la carne de animales de especies diferentes en factor 1, a la izquierda aparecen las ovejas (OD y OT) y a derecha las cabras (CD y CT). También puede observarse en el factor 2 una diferenciación entre las delanteras, que están por encima del eje y las traseras, debajo del eje. Este hecho indica que los asesores fueron capaces de distinguir perfectamente entre carne de animales de las especies y diferentes partes de la canal. Por otra parte, indica que los asesores consideraban más jugosa la carne de oveja, así como más intenso olor y sabor, mientras que las cabras se evaluaron como más duras, fibrosas y con un sabor dulce más intenso. La Figura 2 representa el mapa de los diferentes tipos de carne agrupados por especies y parte de la canal. En este gráfico se puede señalar que todos los tipos de carne están claramente separados en el mapa, con un porcentaje concentrado del 63,77 de la variabilidad en el primer eje. Los resultados indican que los asesores fueron capaces de discriminar a los animales de diferentes especies y partes de la canal, que indica los delanteros de las canales de ovejas como aquellos cuya aceptabilidad era más grande.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Carlucci, A., Girolami, A. Napolitano, F. y Monteleone. E. (1998). *Meat Science*, 50: 131-136. ● NP-ISO-8586-1. (2001). Norma Portuguesa ISO 8586-1. ● Risvik, E. (1994). *Meat Science*, 36: 67-77. ●Rodrigues, S. e Teixeira, A. (2009). *J. Ani. Sci.*, 87:711-715. ●. Teixeira, A. Pereira, E., Rodrigues, S., (2010). *Small Rumin. Res.*. IGA special issue. In press.

Tabla 1. Varianza residual, porcentaje de varianza explicada por el primero de dos componentes principales y los factores de escala para cada catador

Catador	Residuos	1ª dimensión	2º dimensión	FTE
1	1,821	67,534	27,482	0,835
2	0,769	51,700	30,302	0,914
3	2,205	40,612	31,538	1,138
4	1,509	77,697	18,220	1,222
5	2,269	75,426	15,494	1,042
6	1,507	68,897	13,874	1,101
7	5,976	34,562	6,418	0,992
8	1,100	72,103	11,373	1,432
9	2,531	77,082	13,268	0,943
10	1,274	46,762	28,875	0,802

FTE – factores de transformación de escala.

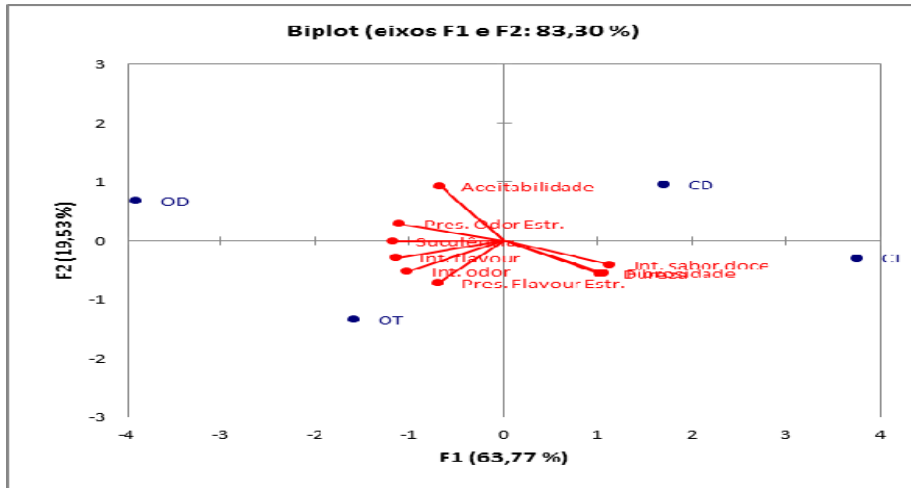


Figura 1. Configuración de consenso.

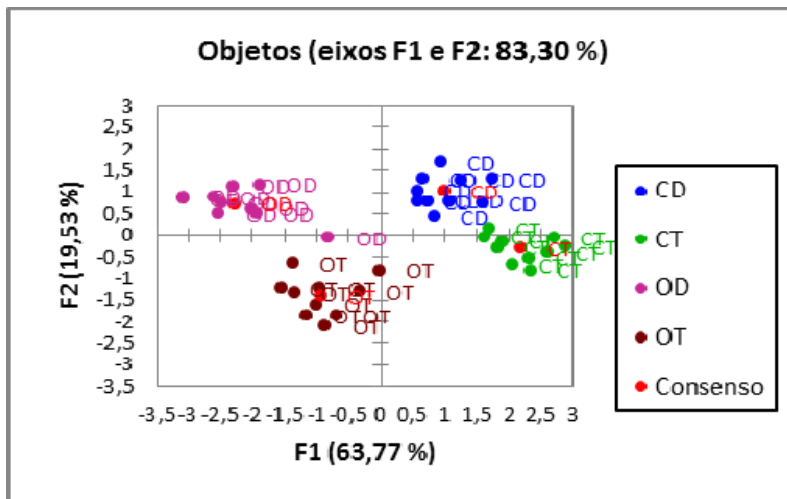


Figura 2: Objeto de configuración de consenso (grupo animal)

SENSORY ANALYSIS OF DRY AND SALT MEAT OF SHEEP AND GOATS

ABSTRACT. The main objective of this work was the sensory characterization of dry and salted meat from 10 culled Serrana goats and 13 culled Churra Galega Bragançana ewes, to improve the added value of this animals. Species and carcass joint effects were studied. Sensory attributes evaluated were odour intensity, presence of strange odour, flavour intensity, presence of strange flavour, juiciness, toughness, stringiness, sweet intensity and overall acceptability. Carcass joints were previously deboned to obtain a blanket of salted and air-dried meat. Sensory meat quality was assessed during 4 sessions by a ten members trained panel. Data were analysed using a Generalised Procrustes Analysis. The first 2 factors explained 83,3% of total variation. Different meat samples were perfectly differentiated by assessors. Thus, they found sheep meat juicer, as well as with more intense odour and flavour than goat meat, which was evaluated as tougher and sweeter. Meat from carcass anterior parts presented higher acceptability by the panel.

Keywords: sheep, goats, meat, sensory analysis

DIFERENCIAS INTERNAS EN LA CALIDAD DE LA GRASA SUBCUTÁNEA DE CERDO

Zudaire, G. y Alfonso, L.

¹Dep. Prod. Agraria, Univ. Púb. Navarra, 31006 Pamplona, leo.alfonso@unavarra.es

INTRODUCCIÓN

Los parámetros habituales de calidad de grasa (Hugo y Roodt, 2007) han sido analizados en distintos trabajos diferenciando las distintas capas de grasa que conforman el tejido graso subcutáneo del cerdo, fundamentalmente la externa y la media, por ser las más desarrolladas al peso comercial de sacrificio. Así, se han descrito diferencias tanto en términos de firmeza y color (Santoro, 1983) como en composición de ácidos grasos (Apple et al., 2009, Monzonis et al., 2007). No obstante, rara vez se han analizado conjuntamente características físicas (consistencia, color, punto de fusión, etc.) y químicas (composición en ácidos grasos, índice de yodo, etc.) relacionadas con la calidad de la grasa dentro de capa. Por ello y dada la importancia de la calidad de la grasa de cerdo para la industria cárnica, el objetivo de este trabajo ha sido analizar, en muestras del tipo de cerdo comercial que actualmente se produce, las diferencias existentes en la calidad de la grasa de distintas capas teniendo en cuenta parámetros tanto físicos (consistencia, color, punto de fusión) como químicos (composición en ácidos grasos, índice de yodo).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron un total de 40 animales criados en la misma granja y sacrificados en un mismo complejo comercial matadero-sala despiece. Estos animales son parte de un estudio previo donde se analizó el efecto del macho finalizador, el sexo y el peso al sacrificio sobre la calidad de la canal y de la carne (se pueden encontrar detalles en Carrasco et al. (2009) y Viguera et al. (2009)). En resumen, los animales eran hembras (n=20) y machos castrados (n=20) libres del gen halotano, de línea materna Chino-Europea y distinto macho finalizador, tipo Duroc (n=20) o Pietrain (n=20). Los animales fueron alimentados con pienso comercial *ad libitum* y sacrificados a diferente peso final; 105 (n=20) o 115 kg de peso vivo (n=20).

Se tomaron muestras de grasa subcutánea de 4x5 cm² de superficie a la altura de la última costilla y en la línea media y de profundidad suficiente para asegurar recoger todo su espesor. Las muestras se conservaron congeladas al vacío a -20 °C hasta el momento de los análisis. El día anterior a los mismos y después de cortar la cantidad necesaria para cada analítica, las muestras se descongelaron a 5 °C y fueron entonces separadas en las diferentes capas de grasa. Debido a la edad de los animales en el momento del sacrificio, la capa interna no estaba suficientemente desarrollada, por lo que únicamente se analizaron las capas externa y media. Estas dos capas se obtuvieron tras la eliminación de la piel y posterior corte de separación entre capas. Se evaluó el color, consistencia, punto de fusión y perfil de ácidos grasos. Además, se realizó una estimación del índice de yodo a partir del perfil de ácidos grasos [ecuación AOCS 1998 (Apple et al., 2009)].

El color se midió mediante espectrocolorímetro Minolta CM2002 (Minolta Co., Ltda., Japan) (D65/10°) con determinación del color CIE Lab. Se consideró la media de un total de cinco medidas no superpuestas en cada muestra.

La consistencia fue determinada por test de punción mediante texturómetro TA.XT2i (Stable Micro System, Surrey, UK) equipado con una sonda de 5 mm de diámetro. La fuerza (N) se midió a una distancia de compresión de 2.5 mm y a una velocidad de ensayo de 2 mm/s. Se tomó el valor medio de cinco medidas por muestra realizadas en intervalos de 1 cm.

El punto de fusión se determinó con el equipo Büchi B-540 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Switzerland). Se tomaron muestras de aproximadamente 1 cm³ para extraer la grasa, tras laminarla, por goteo durante 2 h a 105 °C con el uso de un embudo. La grasa extraída se recogió en tubos de capilaridad (Ø 1.5 mm) y se mantuvieron en refrigeración a 5° C durante toda la noche. La medición se realizó calentando las muestras y aumentando la temperatura en intervalos de 0.5 °C/min a partir de aproximadamente los 33 °C. La temperatura de punto de fusión se anotó una vez la grasa se volvía transparente. Se tomaron tres medidas de punto de fusión para cada muestra, de donde se obtuvo un valor medio.

Para el análisis de ácidos grasos, se agruparon para cada capa las muestras de los animales de mismo sexo, tipo genético y peso de sacrificio, resultando un total de 8 muestras

por capa que se analizaron por duplicado. El método de extracción y metilación de la grasa fue el descrito por Aldai et al. (2006). El perfil de ácidos grasos se analizó mediante cromatografía de gases con el equipo GC 7890 (Agilent Technologies, Estados Unidos) con 'splitless inlet' y detector FID con una columna de 120 m y helio como gas portador y se expresó como porcentaje de ácidos grasos respecto del total.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron diferencias significativas entre capas en consistencia, luminosidad, grado de saturación de la grasa e índice de yodo, aunque no en tonalidad de color (coordenadas a* y b*) ni punto de fusión (Tabla 1). Los resultados indican que la capa externa es más consistente, algo menos luminosa y que su grasa es menos saturada que la de la capa media.

Estos resultados parecen contradecir la idea general de que los ácidos grasos saturados tienen una influencia positiva sobre la consistencia de la grasa subcutánea de cerdo (Hugo y Roodt, 2007). Pese a que la capa externa en los animales analizados era bastante delgada y que esto podría dar lugar a errores de medición en la consistencia según lo indicado por Gläser et al. (2004), los resultados coinciden con lo indicado por Santoro (1983), que describe la capa externa como más firme que la interna, y lo observado en diversos trabajos respecto a la composición de ácidos grasos (p.ej. Apple et al., 2009 y Monziols et al. 2007). Hay que tener en cuenta, que la composición en ácidos grasos no es el único factor que afecta a la consistencia. Gläser et al. (2004) por ejemplo, indican que sólo un 30% de la variación en la consistencia se puede explicar por la composición en ácidos grasos. Así, la consistencia, puede estar también relacionada con la morfología y función del tejido graso. Distintos trabajos han estudiado un comportamiento diferenciado de las capas y apuntan a que la capa media interviene más activamente en los procesos de acumulación y movilización de reservas (Abadia et al, 2008), mientras que la capa externa, tendría una función más estructural y de regulación térmica (Mersmann y Leymaster, 1984).

Respecto al color, aunque Santoro (1983) describe la capa externa como más rosada, en otros trabajos no se encuentran diferencias entre capas (Warnants et al., 1996). Lo mismo ocurre con el punto de fusión, a pesar de que se le supone un menor punto de fusión a la capa externa debido al menor grado de saturación de la misma (Suzuki et al., 2006); aunque en este trabajo no se han visto diferencias significativas entre capas, los resultados van en esa dirección, lo que estaría de acuerdo con otros resultados previos (Daza et al., 2007; López-Bote et al., 2002).

La composición en ácidos grasos ha sido diferente para cada capa. Las concentraciones de ácidos grasos saturados totales (AGS) así como las de los ácidos grasos 16:0 y 18:0 son más bajas en la capa externa que en la intermedia. En cambio, las concentraciones de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGPI) son mayores en la capa externa. Así mismo, los porcentajes de 16:1c9, 18:1c9, 18:2n6 y 18:3n3 son también más altos en la capa externa. Estos resultados concuerdan con otros trabajos previos donde se observaba también un mayor grado de insaturación de la capa externa frente a la media [p.ej. los ya citados Apple et al. (2009) o Monziols et al. (2007)].

Del mismo modo, los resultados de índice de yodo concuerdan con lo observado por Irie y Sakimoto (1992) o Apple et al. (2009), tendiendo la capa externa a valores más altos que la intermedia debido al mayor grado de insaturación de la primera; aunque contradice la idea general de que el índice de yodo disminuye al aumentar la consistencia (Hugo y Roodt, 2007). Esta idea viene determinada por la correlación positiva que se atribuye entre la consistencia y los ácidos grasos saturados, pero que al estudiar las distintas capas de grasa subcutánea por separado, vemos que depende de otros factores que pueden estar relacionados con las diferencias morfológicas y funcionales descritas entre ambas capas.

A modo de conclusión, cabe indicar que la grasa de la capa externa se puede considerar de mayor calidad tecnológica y nutricional que la grasa de la capa media, dado que presenta, fundamentalmente, una mayor consistencia y un menor grado de saturación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abadía, S., Mendizabal, J., Alfonso, L. 2008. *Acta Agr Scand A-An 58: 161-163*. • Aldai, N., Osoro, K., Barrón, L.J.R., Nájera, A.I. 2006. *J Chromatogr A*, vol. 1110, 1-2: 133-139. • Apple, J.K., Maxwell, C.V., Galloway, D.L., Hamilton, C.R., Yancey, J.W.S. 2009. *J Anim Sci* 87: 1423-1440. • Carrasco, C., Viguera, J., Sánchez, M., Flamarique, F., Alfonso, L. 2009. *Proceedings of the 55th International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST) Copenhagen, Denmark. PE1.15*. • Daza, A., Menoyo, D., Olivares, A., Cordero, G., López-Bote C.J. 2007. *J Anim Feed Sci* 16: 408-419. • Gläser, K. R., Wenk, C., Scheeder, M.R.L. 2004. *J Sci Food Agric* 84: 853-862. • Hugo, A., Roodt, E. 2007. *Food Rev Int* 23:175-198. • Irie, M., Sakimoto, M. 1992. *J Anim Sci* 70: 470-477. • López-Bote, C.J., Isabel, B., Daza, A. 2002. *Anim Sci* 75: 349-358. • Mersmann, H.J., Leymaster, K.A. 1984. *Growth* 48 (3): 321-330. • Monziols, M., Bonneau, M., Davenel, A., Kouba, M. 2007. *Meat Sci* 76: 54-60. • Santoro, P. 1983. In: *Fat Quality in Lean Pigs (ed. JD Wood) Doc. EUR 8901 EN, CEC Workshop. Brussels, Belgium. pp. 43-46*. • Suzuki, K., Ishida, M., Kadowaki, H., Shibata, T., Uchida, H., Nishida, A. 2006. *J Anim Sci* 84: 2026-2034. • Viguera, J., Peinado, J., Flamarique, F., Alfonso, L. 2009. *Proceedings of the 60th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (EAAP), Barcelona, Spain*. • Warnants, N., Van Oeckel, M.J., Boucqué, Ch.V. 1996. *Meat Sci* 44: 125-144.

Agradecimientos: Este trabajo se realizó gracias a un proyecto de investigación con el Grupo AN e Imasde Agropecuaria, S.L. del que proceden las muestras.

Tabla 1. Medias (\pm error típico) de distintos parámetros de calidad de grasa en las capas externa y media y nivel de significación de la diferencia (P-valor).

	Externa	Intermedia	P-valor
Consistencia (N)	57.25 \pm 4.65	15.30 \pm 2.41	<0.001
Color L*	73.11 \pm 0.66	75.34 \pm 0.45	0.007
a*	2.40 \pm 0.31	2.65 \pm 0.24	0.528
b*	9.52 \pm 0.25	10.05 \pm 0.22	0.115
Punto de fusión (°C)	41.42 \pm 0.27	42.11 \pm 0.38	0.144
AGS (%)	37.49 \pm 0.55	41.29 \pm 0.25	<0.001
Palmítico (16:0)	23.85 \pm 0.26	25.54 \pm 0.18	<0.001
Estéarico (18:0)	11.59 \pm 0.13	13.71 \pm 0.12	<0.001
AGM (%)	45.12 \pm 0.24	44.26 \pm 0.23	0.020
Palmitoleico (16:1c9)	2.21 \pm 0.03	2.01 \pm 0.04	<0.001
Oleico (18:1c9)	41.30 \pm 0.19	40.66 \pm 0.16	0.017
AGPI (%)	17.39 \pm 0.48	14.45 \pm 0.42	<0.001
Linoleico (18:2n6)	14.73 \pm 0.28	12.30 \pm 0.26	<0.001
Alfa-linolénico (18:3n3)	1.16 \pm 0.02	0.94 \pm 0.02	<0.001
Índice de Yodo	67.61 \pm 0.53	62.08 \pm 0.40	<0.001

QUALITY DIFFERENCES IN PIG BACKFAT LAYERS

ABSTRACT. Backfat samples of swine were examined in order to characterize the quality of the different layers (outer and middle). The results indicate that the outer layer is more firm, less bright and presents a lower percentage of saturated fatty acids. In brief, it seems to have a higher technological and nutritional quality than the middle layer.

Keywords: Pig, backfat, layers, quality.

CARACTERIZACIÓN DE LA GRASA INTRAMUSCULAR DEL TORO DE LIDIA

Horcada, A.*, Polvillo, O., Juárez, M. y Valera, M.

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica. Universidad de Sevilla.

Ctra. Utrera km 1, 41013, Sevilla. *e-mail: albertohi@us.es

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente el toro de Lidia se emplea para la manifestación de su bravura en los festejos taurinos. No obstante, desde el punto de vista productivo, su carne también se destina al consumo. Además, a este mercado contribuyen todos los animales que no han sido lidiados en las plazas de toros (toros participantes en festejos populares, animales de desecho y los que no han superado la prueba de bravura –tienta-). La aportación de carne de cada uno de estos tipos puede estimarse de la manera siguiente: 35% de animales lidiados en plazas de toros de más de 36 meses de edad, 30% de animales lidiados fuera de las plazas de toros en entrenamiento de profesionales o tientas y 35% de animales sin el estrés de la lidia (vacas de desecho, eralas de poca o nula calidad en la tienta). Según estima Caballero (2002), la producción teórica de carne en una ganadería tipo de 120 vacas es de 19.020 kg/año. Estos animales se crían en libertad en los entornos adeshados (Purroy, 1987) aprovechando los recursos propios de la dehesa, suplementándose en determinadas ocasiones con alimento concentrado. La última reglamentación sobre la comercialización de carne de reses de lidia (RD 260/2002) ha posibilitado la mejora de la oferta de este producto que hasta la fecha se viene presentando sin demasiadas especificaciones cualitativas y de uso. La carne de toro de Lidia se ofrece al consumidor como un producto estacional, asociado a la celebración de los festejos taurinos. Con este trabajo se pretende aportar información acerca de las propiedades que ofrece la carne de Lidia en diferentes épocas del año (primavera y verano) y concretamente a las que hacen referencia sobre la composición de la grasa intramuscular para que el consumidor y los profesionales de la carne conozcan las particularidades de este producto que lo hacen tan genuino. Este trabajo supone la continuación al realizado en similares circunstancias con los animales lidiados en las plazas de Sevilla y Pamplona en el año 2006 (Horcada *et al.*, 2009).

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se ha realizado con muestras de músculo procedentes de 92 toros de Lidia de 16 ganaderías (44 animales fueron lidiados en primavera en la plaza de toros de la *Real Maestranza de Sevilla* durante la Feria de Abril de 2009, y 48 en verano en la plaza *Monumental* de Pamplona, durante los festejos de San Fermín del mismo año). Todos los animales fueron destetados con aproximadamente 7 meses de edad. A partir de este momento, los animales fueron alimentados en libertad aprovechando los pastos de dehesa y complementados puntualmente con alimento concentrado (grano de cereal fundamentalmente). Los toros lidiados en Pamplona (en verano) apenas recibieron pasto verde en los tres últimos meses antes de su lidia. Los animales fueron sacrificados en la plaza según el RD 1034/2001. En el caso de Sevilla los toros fueron sacrificados antes de las 24 horas de su llegada a la plaza. Mientras que, siguiendo la tradición de los festejos taurinos de la Feria de San Fermín, previo a su sacrificio, los toros de Pamplona se mantuvieron en corrales individuales por ganadería durante 10 días, siendo alimentados fundamentalmente con concentrados y paja de cebada *ad libitum*. También estos animales, 10 horas antes de su *suerte* recorrieron 800m antes de llegar a la plaza en el tradicional *encierro* de San Fermín. Transcurridas 24 horas desde su sacrificio, se recogieron muestras del músculo *longissimus dorsi* que fueron envasadas al vacío y congeladas a -20°C. Posteriormente se determinó el contenido de grasa (ISO-1443-1973) y el perfil lipídico de la grasa intramuscular del músculo mediante cromatografía gaseosa. La extracción y metilación de la grasa se realizó de acuerdo al método propuesto por Aldai *et al.* (2006). Para la separación e identificación de los ésteres metílicos se utilizó un cromatógrafo de gases modelo Agilent 6890N, equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar HP-88. La identificación de los ácidos grasos se realizó por comparación de sus tiempos de retención con los de una mezcla de patrones de ácidos grasos “Supelco 37”

y de CLA. Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) para determinar las diferencias en las características de la grasa de los animales lidiados en Sevilla y Pamplona.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se detallan los parámetros descriptivos de los animales empleados en este estudio. La edad de lidia (animales cuatreños) fue la misma en ambas plazas ($p > 0,05$). El peso de los animales presentados en Pamplona fue significativamente superior a los de Sevilla ($p < 0,05$). Sin embargo, el peso y el rendimiento de la canal de los animales lidiados en Pamplona fue significativamente inferior a los de Sevilla ($p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente). El contenido de grasa intramuscular fue superior en los animales de Pamplona que en los de Sevilla (3,02 vs 2,88; $p < 0,01$).

Tabla 1. Características de los Toros de Lidia sacrificados en Sevilla y Pamplona en 2009.

	Sevilla (n=44)		Pamplona (n=48)		Sig.
	Media	Desv.	Media	Desv.	
Edad de sacrificio (días)	1629	49,4	1690	19,9	ns
Peso sacrificio (kg)	534,2	34,64	564,0	34,61	*
Peso canal (kg)	321,2	12,97	312,2	40,33	**
Rto Canal	59,9	2,71	55,4	2,16	***
Grasa intramuscular (%)	2,9	0,71	3,0	0,50	**

* $p < 0,05$; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; ns: no significativo

El contenido relativo de los ácidos grasos mayoritarios identificados en la grasa intramuscular de los toros de este estudio se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Valor medio y desviación estándar del contenido de ácidos grasos mayoritarios de la grasa intramuscular de los toros de lidiados en Sevilla y Pamplona en 2009.

	Sevilla n=44		Pamplona n=48		Sg
	Media	Desv.	Media	Desv.	
C16:0	16,2	0,09	21,2	0,09	***
C18:0	22,46	0,10	19,05	0,09	***
C18:1n9c	31,22	0,12	34,52	0,14	***
C18:2n6c	15,71	0,11	11,52	0,12	***
C20:4n-6	3,82	0,04	2,26	0,04	***
SFA	42,10	0,10	43,97	0,13	***
MUFA	35,95	0,15	39,71	0,17	***
PUFA	21,96	0,17	16,32	0,16	***
TOTAL CLA	0,34	0,01	0,53	0,01	***

Donde *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$; ns: no significativo.

SFA: Σ ácidos grasos saturados; MUFA: Σ ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: Σ ácidos grasos poliinsaturados; CLA: ácido linoleico conjugado.

En general, el contenido relativo de los ácidos grasos presentes en la grasa intramuscular del loro de Lidia se corresponde con los descritos por otros autores para el ganado bovino sacrificado a edades más tempranas (Indurain *et al.*, 2006). En ambas plazas, los ácidos grasos mayoritarios han sido el oleico (C18:1n9c), esteárico (C18:0) y palmítico (C16:0). A diferencias de lo observado en Sevilla, en el caso de Pamplona, el ácido C16:0 es el segundo en importancia cuantitativa. Esta observación se relaciona con la mayor disponibilidad de alimento concentrado a la que han tenido acceso los animales de Pamplona frente a los de Sevilla. El contenido relativo de SFA ha sido significativamente superior en la grasa de los animales lidiados en Pamplona frente al contenido observado en la grasa de los animales de Sevilla (43,97 vs 42,10%; $p < 0,001$). Este hecho se debe fundamentalmente a que en los últimos meses de vida, los animales sacrificados en verano en Pamplona han tenido acceso mayormente al alimento concentrado frente a los de Sevilla

que han tenido disponibilidad de forraje y pasto verde hasta el momento de su lidia. Según relata Christie (1981) el consumo de alimento concentrado se relaciona con un incremento en el contenido de SFA. El contenido en MUFA ha sido superior en la grasa de los animales lidiados en Pamplona frente a la de los sacrificados en Sevilla (39,71 vs 35,95%; $p < 0,001$). Sin embargo, el contenido en PUFA ha sido más elevado en la grasa de los animales sacrificados en Sevilla (21,96 vs 16,32%; $p < 0,001$). Estos resultados se explican por la capacidad de movilización de los depósitos de grasa, ya que cuanto más insaturado sea el ácido graso, su movilización a partir del tejido adiposo es mayor, como también su susceptibilidad a la biohidrogenación (Connor *et al.*, 1996 y Raclot, 2003). Esta observación se contempla en los animales lidiados en Pamplona que, ante la demanda de energía durante su estabulación antes de la lidia han movilizado sus reservas de grasa, fundamentalmente la poliinsaturada. De otra parte, los mayores valores de PUFA observados en los toros lidiados en Sevilla se deben a que estos animales han dispuesto hasta su término de pasto de primavera de la dehesa. Respecto a los CLA, considerados como beneficiosos para la salud humana (Parodi *et al.*, 1994), en la tabla 2 se observa que la grasa de los animales sacrificados en verano (Pamplona) ha presentado mayor contenido de CLA que la procedente de los animales lidiados en primavera en Sevilla ($p < 0,001$), dado que el contenido de CLA en la grasa, se asocia al consumo de forraje verde (Martínez, 2007). No obstante, en nuestro estudio, esta relación no se pone en evidencia ya que los animales que han presentado mayor contenido de CLA han dispuesto durante menos tiempo de forraje para su alimentación. Esta observación sugiere que otros factores como la movilización de las reservas de grasa incrementan el contenido de CLA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldai N., Osoro K., Barron L.J.R., Nájera A.I. 2006. Journal of Chromatography. A, 1110, 133-139.
- Caballero J.R. 2002. Mundo Ganadero, 149: 18-21.
- Christie W. 1981. Oxford. Pergamon Press, pp: 95-191.
- Connor W., Lin S. and Colvis C. (1996). Journal of lipid Research, 37:290-298.
- Indurain G., Beriain M.J., Goñi M.V., Arana A., Purroy A. 2006. Meat Science, 73, 326-334.
- Horcada A., Criado M., Polvillo O., Juárez M. 2009. AIDA. XIII Jornadas sobre Producción Animal, Tomo II: 628-630.
- Martínez A. L. 2007. Archivos de Zootecnia. 56(R):45-66.
- Parodi P.W. 1994. Australian Journal of Dairy and Technology, 49, 93-97.
- Purroy A. 1987. Ed. Mundi-Prensa, S.A. Madrid.
- Raclot T. 2003. Progress in Lipid Research, 42: 257-288.

Agradecimientos: Agradecemos la colaboración de los mataderos “GESESUR-2 S.L.” en Sevilla y “La Protectora S.L.” en Pamplona.

CHARACTERIZATION OF INTRAMUSCULAR FAT IN FIGHTING BULLS

ABSTRACT

Intramuscular fatty acid composition of 92 fighting bulls (Seville, spring, $n=44$; Pamplona, summer, $n=48$) was analysed. All animals were reared for about four years in South-Western Spain (“Dehesa system”). The bulls remained on the pasture until they were moved to the bullring. Some months before slaughter, animals were fed concentrate as a supplement. The intramuscular fat of bulls slaughtered at summer showed higher content of SFA and MUFA than animals slaughtered at spring. Furthermore, PUFA content was higher in animals slaughtered at spring in Seville than Pamplona. The intake of concentrate and selective mobilization of PUFA in animals slaughtered in summer justify these results.

Keywords: fighting bulls, fatty acids

ESTIMACIÓN DEL CONTENIDO TOTAL DE GRASA DE FALDA DE VACUNO A PARTIR DEL ESTUDIO DE DIFERENTES ÁREAS DE LA MISMA

Parra, V., López-Gajardo, A., Tejerina, D. y García-Torres, S. vitaiparra@hotmail.com
Centro de Investigación Finca “La Orden-Valdesequera”. Dpto. producción Animal. Junta de Extremadura. 06187-Guadajira (Badajoz)

INTRODUCCIÓN

El despiece es el eslabón siguiente a la obtención de la canal. En ganado vacuno es un proceso complejo (Sañudo y Sierra, 1986) cuya finalidad es separar la carne en piezas de diferentes categorías en función de su composición físico-química, así como de su aptitud culinaria, obteniéndose finalmente piezas de diferente valor económico (Cabrero, 1991). La categorización de las piezas comerciales está recogida en las Normas del MAPA (BOE, 1975). En el caso de la canal de vacuno, la mayoría de la carne se destina a su venta en fresco (filetes, guisos,...), aunque algunas de ellas (de menor salida comercial) se destinan a productos elaborados como salchichas o hamburguesas. Para la elaboración de las hamburguesas, se suele utilizar una mezcla de carne de 2ª categoría y grasa de piezas como la falda (de categoría tercera), siendo ésta última una carne de baja calidad, con un alto porcentaje en grasa y que confiere al producto final una mayor jugosidad. En este sentido, para obtener una hamburguesa de calidad, debemos cuidar especialmente el contenido graso de la carne de origen, ya que la cantidad de grasa incide en las posibilidades de industrialización. Es de tremenda importancia para el industrial que oferta esta pieza a la fábrica de hamburguesas, poder conocer el contenido medio en grasa, puesto que normalmente es una especificación en el contrato de compra. Poder desarrollar un método objetivo que permita categorizar las piezas en función de su contenido graso para cumplir los requerimientos para la fabricación de hamburguesas o destinarlas a otros usos diferentes, sería de gran interés. Existen estudios en los que se han relacionado la composición de la canal con los diferentes cortes de carne, tanto en ovino (Galvani *et al.*, 2009) o en bovino (Hankins y Howe, 1946). Así, el objetivo de este trabajo fue determinar la una zona en la falda representativa del contenido total de grasa de la pieza completa, antes de entrar en la cadena de producción de hamburguesas con el fin de poder categorizarlas, separarlas por grupos destinados a diferentes usos, agilizar su salida comercial en los mataderos y optimizar los procesos de producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo este estudio se analizaron 10 piezas de falda procedentes de terneros certificados con la IGP “Ternera de Extremadura” (animales nacidos, criados y sacrificados en Extremadura, con gran variabilidad en cuanto a genotipos, sexo, edad de sacrificio y sistemas de producción).

Los análisis se realizaron a partir de las faldas de la media canal izquierda constituidas por los músculos de las paredes abdominales y porción de la pared torácica, siendo los principales músculos de esta pieza: *cutaneus trinci*, *intercostales internus* y *externus*, *pectorales superficialis* y *profundus*, *pilares del diafragma*, *obliquus esternus e internus*, *abdominis rectus* y *transversus abdominis* (Carballo *et al.*, 2005).

Después del sacrificio, las canales fueron refrigeradas hasta su despiece, a 2°C de temperatura durante 24 h. Se extrajo la falda, que fue preparada por el matadero como demandan las fábricas de hamburguesas. La falda procedente de la media canal izquierda, se trasladó al Laboratorio de Calidad de carne del centro de investigación “La Orden” y se procedió al muestreo de la misma teniendo en cuenta zonas con diferente grado de engrasamiento valorado *de visu*. Cada pieza de falda fue seccionada en su parte caudal y craneal entre la 6ª y 7ª costilla. En la Figura 1 se detallan las zonas de muestreo.

En la parte craneal de la falda:

- P1: Al final de la 2ª costilla cerca del esternón
- P2: Zona torácica de la 3ª costilla
- P3: Parte media en zona torácica a nivel de la 6ª costilla
- P4: Borde de la zona ventral a nivel de la 6ª costilla

En la parte caudal de la falda:

- P5: Zona torácica de la 7ª costilla

- P6: Zona central de la parte caudal de la falda
- P7: Borde de la zona torácica de la 8ª costilla
- P8: Borde de la zona torácica de la parte caudal de la falda

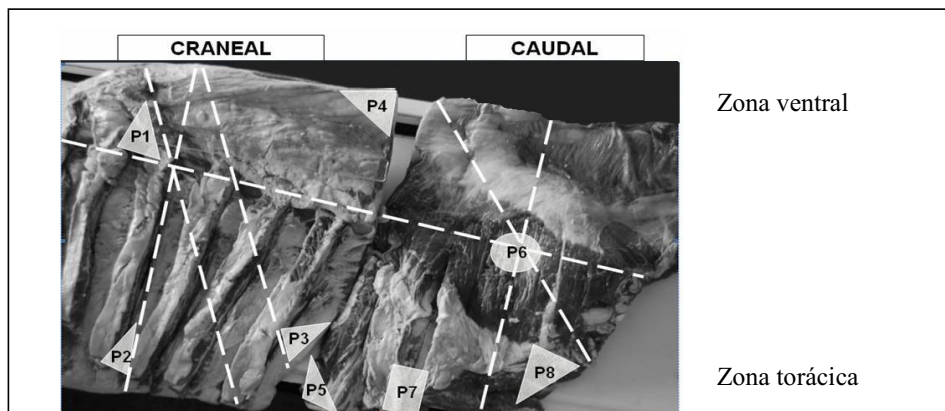


Figura 1. Muestreo de la falda de ternera

Cada zona muestreada se dividió en 4 submuestras, y todos los análisis se realizaron por duplicado. El contenido graso de cada punto muestreado en la falda se extrajo con cloroformo/metanol (2:1 v/v) siguiendo el método descrito por Folch *et al.*, (1957). Posteriormente, se homogenizó la falda y se tomó una muestra de la totalidad con el fin de conocer el contenido total de la grasa de la pieza.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de correlación bivariada a través del software SPSS (SPSS 13.0) obteniéndose la correlación de Pearson entre el porcentaje de grasa total de la pieza y el porcentaje de grasa de los diferentes puntos muestreados, para determinar aquellos que guardan mayor correlación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se observan los valores de composición grasa para cada uno de los puntos muestreados así como el valor del contenido total de la falda. El contenido de grasa total de la falda es muy variable y en general existe una gran variabilidad de los tejidos de la canal bovina, pudiendo alcanzar oscilaciones de hasta el 35.3% en el tejido graso como ya demostraron Dumont *et al* (1961) o de un rango del 0.5 al 18 % como indicó Schön (1963) en otro exhaustivo estudio.

Tabla 1. Porcentaje de grasa (media \pm desviación estándar)

	n	% Grasa	Rango	r ²	p
P1	10	28,33 \pm 12,67	10,26-47,39	0,83	**
P2	10	21,93 \pm 11,36	8,00-39,74	0,87	**
P3	10	26,59 \pm 10,56	14,19-47,48	0,65	*
P4	10	28,26 \pm 12,56	9,84-45,17	0,86	**
P5	10	28,28 \pm 11,27	12,58-46,85	0,54	ns
P6	10	24,64 \pm 10,89	13,03-51,00	0,36	ns
P7	10	20,00 \pm 7,81	11,01-36,12	-0,08	ns
P8	10	14,36 \pm 8,77	2,92-32,58	0,53	ns
Total	10	25,40 \pm 10,67	11,94-45,43	-	-

Significación: *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ns: no significativo

En la tabla 2 se observan los resultados de las correlaciones (correlación de Pearson "r²") entre los valores de grasa de los puntos muestreados y la total de la pieza. Como se puede observar, existe una correlación positiva y significativa entre el contenido graso en el punto 1

($p < 0.01$), punto 2 ($p < 0.01$), punto 3 ($p < 0.05$) y punto 4 ($p < 0.01$) con respecto al contenido de grasa total. Dichos puntos se encuentran localizados en la zona craneal de la falda. Por lo tanto, la composición grasa de esta región podría ser más representativa que la zona caudal. Además, dentro de la zona craneal, el Punto 2 mostró una correlación más alta que el resto.

Tabla 2. Correlaciones entre los diferentes puntos muestreados

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
P2	0,788**	-	-	-	-	-	-	-
P3	0,904***	0,561	-	-	-	-	-	-
P4	0,967***	0,782**	0,894***	-	-	-	-	-
P5	0,832**	0,512	0,872***	0,750*	-	-	-	-
P6	0,444	0,193	0,576	0,421	0,534	-	-	-
P7	0,216	-0,190	0,227	0,155	0,390	-0,281	-	-
P8	0,623	0,401	0,640*	0,646*	0,588	0,704*	-0,126	-
Total	0,834**	0,876**	0,646*	0,855**	0,538	0,362	-0,080	0,530

*Significación: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$*

Así, en este estudio preliminar se propone la zona de muestreo denominada P2 como región anatómica de la falda más representativa del contenido total de grasa de la pieza. Estos resultados que se presentan como preliminares ponen de manifiesto la posibilidad de determinar de manera más precisa, una zona de muestreo que sea representación del contenido total de grasa de la falda, lo que se propone abordar posteriormente, aumentando el número de faldas muestreadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOE, 1975, nº165 de 11 de julio. Normas para el comercio al detalle de la carne. MAPA.
- Cabrero, M. 1991. *Bovis* 38 :1-70.
- Carballo, J.A., Monserrat, L. y Sánchez, L., .2005. *Monografías INIA*. 2:120-140.
- Dumont, B.L., Le Guelte, P., y Arnoux, J. 1961. *Ann Zootech*. 10 :149-154.
- Folch, J., Lees, M. y Stanley, G.H.S. 1957. *J. Biochem*. 226 :497-508.
- Galvani, D.B., Pires, C.C., Wommer, T.P., Oliveira, F., Griebler, L. y Santos, M.V. 2009. *AIDA*. Tomo II, 511-513.
- Sañudo, C. y Sierra, M.1986.*Ovino Exclusivas UNE*. 127-153.
- Schön, I. 1973. *World Rev. Anim. Prod.* IX. 2: 34-47.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración de la IGP "Ternera de Extremadura" y de la empresa "El Encinar de Humienta, S.A.". Este trabajo se encuadra en el proyecto PDT09B035 financiado por FEDER-Junta de Extremadura y las ayudas FEDER-Junta de Extremadura (Ref. GR10078) al Grupo Tradinnoval (AGA016).

STIMATION OF TOTAL FAT CONTENT OF BEEF FLANK BY STUDY OF DIFFERENT AREAS OF THE SAME

ABSTRACT. In meat industry beef flank used for the production of hamburgers. The fat composition of this piece is variable, this is a problem for their manufacturing. The objective of this study was allow improved classification of beef different piece according to fat composition to increase processing efficiency, as well as obtain an estimate of fat content in this piece for sale to factories burgers. Ten beef flanks were used to study the relationships between total flank fat composition and the fat composition of individual cuts (Fig. 1). The results indicate that the cranial area could be more representative and P2 of this area showed the best correlation ($r^2=0.876$).

Keywords: flank, beef, fat content

EFFECTO DEL TIEMPO DE CONGELACIÓN SOBRE LA CALIDAD INSTRUMENTAL EN CORDEROS TIPO TERNASCO

Monge P^{(*)1}., Muela, E. ¹, Olleta, J.L. ¹, Campo, M.M¹. ¹, Medel, I²., Oliván, A²., Sañudo, C¹. y Beltrán, J.A¹.

¹Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177 (50013) Zaragoza. (*)paulam@unizar.es

²Pastores Grupo Cooperativo de Productores de Carne, Edificio Pastores, Carretera Cogullada 65 Mercazaragoza, 50014 Zaragoza

INTRODUCCIÓN

La producción de cordero es irregular a lo largo del año debido al anoestro estacional de la especie. El uso de la congelación permitiría estabilizar la oferta, sin picos de precios (Hansen et al., 2004) y posibilitaría al consumidor elegir el momento en el cual comprar y consumir el cordero. La carne puede permanecer en congelación con sus características de frescura más o menos intactas, en teoría, durante largos periodos de tiempo y con pocas modificaciones respecto al producto en fresco. A pesar de ello, la congelación siempre se ha asociado con una pérdida de calidad del producto y genera cierta inseguridad por no conocer el estado y calidad de esa carne en origen (Lagerstedt et al. 2008). Esto se acentúa en el caso del cordero, por ser un producto tradicional que los consumidores acostumbran a comerlo en fresco (Sañudo et al., 1998). Sin embargo, los propios consumidores tienen el hábito de congelar la carne en sus domicilios, con sistemas convencionales que no pueden competir con los industriales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon 16 machos enteros, de raza Rasa Aragonesa, que se sacrificaron en dos tandas con cuatro días de diferencia. En 8 de ellos se estudió un tiempo de congelación de 1 mes y en los otros 8 un tiempo de congelación de 9 meses. Se seleccionaron canales con un PCF de 12-14 kg. Tras 24 horas en refrigeración se extrajo el músculo *Longissimus dorsi*, que fue dividido en distintas partes para los diferentes análisis. Se hicieron los análisis en fresco en las porciones correspondientes a día 0 y el resto se envasó en atmósfera protectora (O₂:CO₂: Ar) manteniéndose durante 3 y 6 días de exposición en refrigeración. Las porciones a congelar se envasaron al vacío y tras un golpe de frío en un túnel en continuo (15 minutos a -36°C) se mantuvieron a -18°C durante 1 mes o 9 meses. Pasado este tiempo se descongelaron y se realizó el análisis instrumental a día 0 y las porciones correspondientes a día 3 y 6 fueron envasadas en las mismas condiciones que en la carne fresca y almacenadas en refrigeración. Las determinaciones instrumentales que se realizaron, tanto en fresco como en congelado y tras 0, 3 y 6 días de exposición, fueron el pH, el color (medido por el sistema CIE L*a*b*), la textura (medida por el método de Warner-Bratzler), el nivel de oxidación lipídica (TBARS) y la capacidad de retención de agua (CRA). (Cañeque y Sañudo, 2005)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 vemos que tanto para el tiempo de exposición (0, 3 ó 6 días) como para el tiempo de congelación (0, 1 ó 9 meses) existieron diferencias significativas en todas las variables, siendo más importantes las debidas al tiempo de exposición. Igualmente se aprecia que hubo interacción significativa en todas las variables excepto en L* y en CRA.

Como se ve en la Tabla 2, los valores más altos de pH se encontraron a día 0 de exposición, y dentro de éste tras 9 meses de congelación. Sin embargo, a 3 y 6 días de exposición los valores más altos se correspondían con las muestras testigo. Todos los valores estuvieron dentro de un rango aceptable considerando un valor de pH de 5,8 como límite (Devine et al., 1993).

En el color, el índice de rojo, a*, fue la variable donde más diferencias se encontraron según los días de exposición y las mayores diferencias entre las muestras testigo y las congeladas fueron para 3 y 6 días de exposición. La luminosidad, L*, para 9 meses de congelación, fue la única variable donde no se encontraron diferencias en cuanto al tiempo de exposición,

aunque la tendencia de la carne descongelada a ser más oscura coincide con los encontrados por Moore and Young (1991) en los que la L* presentó unos valores más altos en carne fresca que en descongelada, aunque las diferencias no fueron significativas.

El tiempo de exposición en MAP tuvo una gran influencia en la oxidación (TBARS), ya que aumentó significativamente ($p \leq 0.001$) al aumentar la exposición en bandeja. En cuanto al tiempo de congelación, no se encontraron diferencias entre las muestras testigo y las de 1 mes de congelación, pero sí que se encontraron para 9 meses de congelación presentando éstas los valores más altos. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Muela et al. (2009) que, aunque las diferencias no fueron significativas, sí que se observa una tendencia a una mayor oxidación conforme aumenta el tiempo de congelación y la maduración, quizás como consecuencia del daño producido en ciertas estructuras celulares.

En la textura, tanto en la máxima carga como en la dureza, hubo diferencias significativas en cuanto al tiempo de congelación pero sólo para un tiempo de exposición de 6 días. Los valores más altos en ambas variables se encontraron en las muestras testigo. También se encontraron diferencias significativas para los distintos tiempos de exposición pero sólo en las muestras que fueron congeladas resultando una carne más dura a 0 días de exposición y tras 9 meses de congelación. Como vemos, la dureza disminuye al aumentar los días de exposición en bandeja de acuerdo con otros trabajos (Lagerstedt et al. 2008) realizados en bovino.

Las pérdidas de agua fueron según lo esperado, mayores conforme aumentaba el tiempo de congelación y pasaban los días de exposición.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•Cañeque, V. y Sañudo, C. (2005). Monografías INIA: Serie Ganadera, 3, 448 pp. •Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A., Bertelsen, G. y Skibsted, L.H. (2004). Meat Sci., 68 :479-484. • Lagerstedt, A., Enfält, L., Johansson, L., Lundström, K. (2008). Meat Sci., 80: 457-461. •Moore, V.J., y Young, O.A.(1991). Meat Sci. 30: 131-145. • Muela, E., Sañudo, C., Campo, M.M., Medel, I. y Beltrán J.A. (2010). Meat Sci. 84: 662-669. • Sañudo, C., Nute, G. R., Campo, M. M., María, G., Baker, A., Sierra, I., Enser, M.E., Wood, J.D. (2008). Meat Sci., 48: 91-100

Agradecimientos: Este trabajo está financiado por el Proyecto CDTI 2009/0583. Los autores agradecen la colaboración de Mercazaragoza y del grupo cooperativo Oviaragón Pastores. Al personal de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza por el trabajo realizado.

EFFECT OF FROZEN STORAGE DURATION ON LAMB QUALITY THROUGHOUT DISPLAY

ABSTRACT. The effect of two duration times of freezing (1 month vs 9 months) and three different lengths of display (0, 3 and 6 days) on meat quality was evaluated in two batches of 8 carcasses of Rasa Aragonesa breed. pH, colour, lipid oxidation, texture and water holding capacity were assessed in the muscle *Longissimus dorsi*. The measurements were taken in fresh meat, in thawed meat and in the three times of display. The results showed that the display period had a more pronounced effect on instrumental quality than did frozen storage duration.

Keywords: freezing, display, instrumental quality, lamb.

Tabla 1. Efecto de dos tratamientos y de su interacción sobre variables de calidad instrumental de la carne de cordero.

	exposición	tiempo congelación	exposición*tiempo congelación
pH	***	***	***
L*	***	ns	ns
a*	***	***	***
b*	***	***	***
TBARS	***	***	***
Máxima carga	***	*	***
Dureza	***	***	*
CRA	***	***	ns

ns (no significativo); * ($p \leq 0,05$); *** ($p \leq 0,001$)

Tabla 2: Efecto del tiempo de exposición en refrigeración y del tiempo de congelación sobre la calidad instrumental de la carne de cordero (Medias y desviaciones típicas)

	días exposición	tiempo de congelación		
		0 meses (fresco)	1 mes	9 meses
pH	0	5,72±0,045aB	5,60±0,043aC	5,77±0,056aA
	3	5,64±0,69bA	5,54±0,022bB	5,53±0,027bB
	6	5,64±0,039bA	5,55±0,019bB	5,55±0,044bB
L*	0	45,85±2,68b	45,77±1,38b	45,77±2,17
	3	49,32±2,23a	47,74±1,46a	48±2,90
	6	48,94±2,30a	46,38±2,17ab	48,88±3,66
a*	0	21,83±1,30aA	20,83±0,98aA	19,04±1,26aB
	3	19,92±1,02bA	17,75±1,11bB	12,97±2,64bC
	6	18,90±1,42cA	16,17±1,22cB	9,41±1,22cC
b*	0	4,72±0,72bB	1,98±0,30bC	7,04±0,57bA
	3	8,37±0,83aC	12,51±0,73aA	10,73±2,12aB
	6	8,11±0,68aB	12,17±0,95aA	11,75±1,05aA
TBA	0	0,061±0,007cB	0,065±0,013bB	0,153±0,033cA
	3	0,117±0,031bB	0,108±0,062bB	1,792±0,764bA
	6	0,195±0,07aB	0,250±0,189aB	3,652±0,730aA
Máxima carga (kg)	0	7,13±1,19	7,84±1,16a	8,34±2,13a
	3	6,88±1,75	5,78±1,36b	6,38±2,00ab
	6	6,43±1,68A	3,37±0,89cB	4,55±1,70bB
Dureza (kg/cm ²)	0	2,80±0,52	2,63±0,44a	3,15±0,93a
	3	2,85±0,71	2,24±0,59a	2,27±0,62b
	6	2,53±0,72A	1,27±0,35bB	1,79±0,60bB
CRA	0	9,08±1,99cC	16,33±1,87aB	20,96±2,21bA
	3	13,36±2,46bC	18,99±1,86bB	24,66±3,93abA
	6	17,02±4,57aB	19,86±2,95bB	27,41±5,94aA

a, b, c: diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre medias.

A, B, C: diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre medias.

EFFECTO DEL SISTEMA DE CONGELACIÓN EN CARNE DE CORDERO SOBRE LA CALIDAD DEL PRODUCTO FINAL

Muñoz-Regalado, B*, Cáceres-Nebreda, A. y López-Parra, M^a.M.
Servicio de Coordinación y Administración del SECTI. Centro de Investigación Finca La Orden- Valdesequera. SECTI. 06187 Guadajira (Badajoz).
belen.munoz@juntaextremadura.net*

INTRODUCCIÓN

El desequilibrio estacional existente entre la producción de corderos en los primeros meses del año frente a la demanda creciente en el segundo, origina un incremento considerable del precio del producto.

Las técnicas de conservación permiten aumentar el periodo de vida útil de la carne, y por tanto facilitan su comercialización. La congelación supone una alternativa a tener en cuenta, por un lado asegura el abastecimiento homogéneo y estable a lo largo del año, y por otro permite la conservación del producto para que permanezca en el lineal de consumo durante más tiempo sin que se deteriore su calidad y se deprecie por el consumidor.

Así con este estudio se pretende: 1^º: comparar dos sistemas de congelación: en cámara de congelación (-30^º) y en túnel de congelado (-40^ºC), 2^º: ensayar diferentes tiempos de mantenimiento en congelación: 3 y 6 meses y 3^º: determinar la evolución de la calidad de la carne de cordero descongelada y envasada en atmósferas modificadas (69.6% N + 30% CO₂ + 0.4% CO), mantenidas en refrigeración 5 y 8 días.

MATERIAL Y MÉTODOS

La producción de los corderos se llevó a cabo en la cooperativa OVISO (Villanueva de la Serena). Se estudiaron 38 corderos de la raza Merina, criados bajo un régimen intensivo, alimentados con concentrados y paja de cereal *ad libitum* hasta el momento del sacrificio.

Los animales se obtuvieron al azar de entre los sacrificados, con un peso medio de canal caliente de 14.16 kg. Los corderos tras el sacrificio fueron faenados y se mantuvieron en refrigeración (0-4^ºC) durante 24h, transcurrido este periodo, las canales fueron despiezadas, obteniéndose las piernas objeto de estudio.

Del total de las piernas de cordero destinadas a estudio se utilizaron 1/3 para el estudio de la calidad de la carne en fresco (GF), 1/3 para la congelación en cámara (GC) y 1/3 para la congelación en túnel (GT). La mitad de las muestras congeladas, tanto en GC como en GT se sometieron a un periodo de almacenamiento de 3 meses y la otra mitad de 6 meses.

Una vez transcurrido ese tiempo, las muestras se descongelaron en refrigeración (4^ºC) dentro del film plástico unas 36 horas previas al fileteado y a la realización de los análisis de calidad. Se analizaron las muestras correspondientes al día 0, y se envasaron en bandejas en atmósferas modificadas las correspondientes a los días 5 y 8.

Cada uno de los días (0, 5 y 8), se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: color, pH, humedad, capacidad de retención de agua (CRA)(Grau y Hamm, 1953), contenido en pigmentos hemínicos (Hornsey, 1956), proteínas (ISO R-937), textura (Warner-Bratzler)(Beltrán y Roncalés, 2001) y pérdidas por cocinado. El análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico Spss 15.0 para windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A la vista de los resultados obtenidos observamos que el tipo de conservación, objeto principal de éste estudio, no ha ejercido influencia en los parámetros estudiados. En cuanto al tiempo de conservación las diferencias se manifiestan de forma diferente según los días transcurridos.

Mes 3 (Tabla1)

El pH incrementa su valor a medida que transcurren los días, tanto en GC como en GT, encontrándose todos los valores dentro de un rango aceptable, considerando un pH de 5.8 como limitante.

Uno de los parámetros más apreciados por los consumidores como indicativo de calidad de la carne es el color. En este caso la luminosidad L* no muestra diferencia alguna con el paso del tiempo. En cambio el tono disminuye a lo largo de los días en la carne fresca, al igual que el croma o saturación, pero no es así en la carne congelada.

La CRA se comporta de manera similar en los tres tipos de conservación, con una disminución progresiva de los valores a medida que aumenta el tiempo.

Las pérdidas por cocinado tanto en GC como en GT se elevan considerablemente el día 8.

La textura se ve alterada con el paso de los días en todos los tipos de conservación disminuyendo el valor de la fuerza de corte a medida que transcurren los días

Mes 6 (Tabla 2)

Transcurridos 6 meses de conservación el pH no se mostró diferente en ninguno de los sistemas de conservación.

En cuanto a la luminosidad L*, pese que a los 3 meses no mostró diferencias, en este caso la tendencia en todos los sistemas es de incrementarse con los días, aunque solo en el sistema GT resulta ser significativo.

Tanto el tono como el croma se comportan de manera similar que en el mes 3 de conservación.

La CRA muestra el mismo comportamiento de disminución a lo largo del tiempo, al igual que ocurría tras 3 meses de conservación.

Las pérdidas por cocinado no se ven alteradas por el tiempo de conservación a diferencia de lo observado a los 3 meses.

Tabla 1: Efecto del sistema de conservación sobre la calidad de la carne en el mes 3 (m3) Tabla 2: Efecto del sistema de conservación sobre la calidad de la carne en el mes 6 (m6)

pH	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	5,77	5,57	5,70	ns
GT M3	5,42a	5,66b	5,65b	*
GC M3	5,44a	5,51ab	5,65b	*
Sig	ns	ns	ns	
L*	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	37,93	38,74	40,77	ns
GT M3	32,99	37,53	34,77	ns
GC M3	33,10	36,15	36,09	ns
Sig	ns	ns	ns	
Tono	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	19,67b	15,79a	15,36a	**
GT M3	24,26	21,02	23,04	ns
GC M3	23,57	17,65	20,52	ns
Sig	ns	ns	ns	
Croma	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	12,48a	18,79b	15,07a	**
GT M3	13,80	13,40	11,01	ns
GC M3	10,66	13,95	11,99	ns
Sig	ns	ns	ns	
CRA	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	34,21b	26,59a	24,18a	***
GT M3	34,48b	23,34a	21,68a	***
GC M3	33,28b	22,97a	20,96a	***
Sig	ns	ns	ns	
Pérdidas	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	23,19	21,08	21,21	ns
GT M3	22,81a	21,80a	29,68b	**
GC M3	22,47ab	18,81a	26,23b	**
Sig	ns	ns	ns	
TXT	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	96,57b	38,92a	36,83a	***
GT M3	55,42b	23,40a	36,09a	***
GC M3	48,29b	24,96a	41,15a	***
Sig	ns	ns	ns	

pH	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	5,76	5,57	5,70	ns
GT M6	5,45	5,56	5,60	ns
GC M6	5,46	5,58	5,58	ns
Sig	ns	ns	ns	
L*	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	37,93	38,74	40,78	ns
GT M6	31,31a	38,14b	39,52b	***
GC M6	34,76	36,55	39,63	ns
Sig	ns	ns	ns	
Tono	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	19,67b	15,78a	15,36a	**
GT M6	19,35	16,85	18,61	ns
GC M6	20,89	13,73	19,48	ns
Sig	ns	ns	ns	
Croma	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	12,48a	18,78b	15,07a	**
GT M6	13,00	16,02	15,70	ns
GC M6	13,34	12,83	14,04	ns
Sig	ns	ns	ns	
CRA	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	34,21b	26,59a	24,18a	***
GT M6	34,15c	27,38b	23,41a	***
GC M6	32,80b	25,38a	23,97a	***
Sig	ns	ns	ns	
Pérdidas	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	23,19	21,80	21,26	ns
GT M6	20,85	21,65	20,01	ns
GC M6	20,68	20,74	18,85	ns
Sig	ns	ns	ns	
TXT	D 0	D 5	D 8	Sig
GF M0	96,57b	38,92a	36,83a	***
GT M3	54,98b	35,93a	29,15a	***
GC M3	61,30b	34,15a	29,15a	***
Sig	ns	ns	ns	

La textura se comporta de igual manera que en el mes 3 de congelación. En cuanto a pigmentos hemínicos, humedad y proteínas no se encontraron diferencias significativas debidas al tipo ni al tiempo de conservación. Como conclusiones parciales podemos decir que tras 3 meses de congelación y a la vista de los resultados obtenidos, la congelación de la carne no afectó a las medidas instrumentales de calidad, independientemente del sistema con el que se congelara. Sin embargo sí se ven alteradas durante el periodo de tiempo de mantenimiento en refrigeración de 8 días tras la descongelación (tiempo superior al normal de consumo de la carne congelada) aunque manteniendo unos valores aptos para el consumo humano. A los 6 meses de conservación en congelación, se determina menor variación en las medidas instrumentales de calidad respecto a los 3 meses. Como conclusiones finales podemos indicar que la carne de cordero puede ser congelada tanto en cámara como en túnel durante 3 o 6 meses sin que su calidad se vea mermada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beltrán, J.A. y Roncalés, P. (2001). Determinación de la textura. En : metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne de rumiantes. Ed. V Cañeque y C. Sañudo. Monografías INIA. Ganadera I: 169-172
- CIE (1976). 2nd Edition Viena. Austria Bureau Central de la CIE. Publication 15
- Grau, R., Hamm, R. (1957). Ubre das Wasserbindungsvermögen des Saugtiermuskels. II. Mitt. Ueber die Bestimmung der Wasserbindung des muskels. Z. Lebensm.-Unsters.Forch.105:446
- Hornsey, H.C. (1956). The colour of cooked cured pork. I. Estimation of nitric oxide-haem pigments. J. Sci. Food. Agric. 7, 534
- ISO R936. Meat and meat products. Determination of ash.

Agradecimientos : este trabajo es parte de un proyecto financiado por III Plan Regional de Investigación PRI (PDT09B025), y realizado por el departamento de Producción Animal del Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (Badajoz).

EFFECT OF FREEZING METHOD ON THE QUALITY OF LAMB MEAT.

ABSTRACT: The effect of freezing method (tunnel GT or chamber GC) and frozen storage time (3 or 6 months) on the quality of lamb meat were evaluated and compared with fresh meat (GF). Meat defrosted and modified atmosphere packaged after 5 and 8 days were studied too. The work was performed on leg chops. There were no differences among GF, GT or GC after 3 or 6 months. Some differences were shown due to days of storage.

Keywords: lamb, meat, freezing method.

EFFECTO DEL TIPO DE ENVASADO EN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDERO PARA DIFERENTES TIEMPOS DE MADURACIÓN

Muela, E.¹, O'Connor, D.I.², Sañudo, C.¹, Beltrán, J.A.¹ y Allen, P.²

¹ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España. muela@unizar.es

² Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Ashtown, Dublin 15, Ireland

INTRODUCCIÓN

El envasado a vacío es muy utilizado en la conservación en refrigeración a largo plazo (Kerry et al., 2006) pero la formación de desoximioglobina (rojo oscuro) hace más común el uso de las atmósferas con alto porcentaje de O₂ en venta directa al consumidor, donde la carne es de color rojo brillante, muy atractiva (Jenkins y Harrington, 1991). Este color podría obtenerse con el uso de monóxido de carbono (CO) (Luño et al., 1998). Sin embargo, la UE ha prohibido su uso debido a su toxicidad (Sorheim et al., 1997), y al enmascarar la alteración del color, que es utilizado por el consumidor como índice de frescura. El objetivo de este trabajo fue estudiar la calidad de carne de cordero en diferentes envasados.

MATERIAL Y MÉTODOS

A las 48h post-sacrificio se obtuvo el músculo Longissimus dorsi (LD) derecho e izquierdo de una oveja de raza Charolaise, el cual se segmentó en porciones de 2.5 cm de grosor. A continuación, se envasaron 2 muestras para cada uno de los sistemas de envasado (SE): vacío (V), bandeja con film permeable a los gases (F), bandeja con atmósfera modificada (AM), 60%CO₂:40%N₂, y la misma atmósfera pero con carne pre-expuesta al monóxido de carbono (CO+AM). La exposición al CO se realizó en una bolsa especialmente fabricada a partir una bolsa de vacío, a la cual se añadió unos conectores y unos tubos de entrada y salida, sellados con una pieza metálica. Tras envasar a vacío la bolsa con las muestras en su interior y los tubos cerrados por las piezas metálicas, para eliminar el aire en el interior de la bolsa, ésta se conectó a una bombona que contenía CO (5:60:35 CO:CO₂:N₂), manteniendo un flujo de corriente durante 1 minuto tras el llenado de la bolsa. Una vez llena de gas, se mantuvo 5h en refrigeración (2-4 °C) y las 2 muestras se envasaron en la bandeja de atmósfera protectora sin tocar la superficie de exposición al CO. Todas las muestras se mantuvieron en refrigeración (2-4 °C) en una vitrina expositora y con un ciclo de iluminación de 12h, hasta 8d (efecto maduración, M).

A los 7 y 8d de maduración se realizaron los análisis instrumentales de calidad. Una de las muestras se utilizó para la determinación del color (de 1 a 5h de blooming), siguiendo el sistema CIE L*a*b*, con un espectrocolorímetro portátil HunterLab MiniScan XE Plus 45/0-L (iluminante D₆₅ y observador a 10°). Tras este análisis, se midió el pH con un equipo Orion 250 A+ dotado de una sonda de penetración y se realizó el análisis de oxidación por la medición de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrito por Pfallgraf et al. (1995). La otra muestra, se cocinó a 75 °C en un baño de agua hasta que alcanzó los 70 °C (medido con un termómetro de penetración) de temperatura interna, calculando las pérdidas por cocinado [PC= (Peso inicial-peso final/peso inicial)*100] y, tras ser refrigerada 5 minutos, se utilizó en el análisis de textura por el método de Warner-Bratzler (Honikel, 1998) con un Instron 5543, tomando la dureza como parámetro de referencia.

Los efectos del sistema de envasado (SE) y la maduración (M) en las variables de análisis instrumental de calidad fueron analizados con el programa SPSS 15.0 para Windows Vista, aplicando un Modelo Lineal General para determinar la significación de los efectos (o su interacción). En el análisis del color, se consideró además el efecto "blooming"-B- (1 a 5h) dentro de cada SE y M. La media y la desviación típica o la diferencia del error estándar se calcularon para cada variable. Para identificar diferencias significativas entre medias se aplicó el test de Duncan (p ≤0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó una interacción significativa (p≤0.001) entre los efectos (datos no mostrados) en las variables pH, dureza, oxidación y pérdidas por cocinado. Para el pH, aunque las diferencias fueron significativas (Tabla 1), al variar el rango de pH sólo a nivel centesimal, carecen de importancia práctica. Sin embargo, el SE no tuvo efecto sobre la dureza (Tabla

1). Es de destacar que la carne a vacío se consideraría dura, ya que sus valores superan los 45 N utilizados como límite (McGeehin et al., 2002). En la oxidación (Tabla 1), el envasado con film mostró valores significativamente superiores, siendo además el único SE donde no se produjo un aumento significativo del valor con la M, aunque todos ellos mostraron valores indetectables sensorialmente. Tanto SE como M tuvieron un efecto significativo sobre las pérdidas por cocinado (Tabla 2), donde CO+AM mostró un aumento significativo de 7 a 8d de envasado (al contrario que el resto de SE) y con valores superiores a este tiempo. En cuanto al color, las variables se comportaron de diferente manera. La luminosidad (L*) mostró en el envasado en atmósfera y a vacío valores significativamente ($p \leq 0.01$) inferiores tras 4h blooming (resultados no mostrados) a los 7d envasado. También se observaron diferencias significativas en L* ($p \leq 0.001$) entre SE tras 3/4h de blooming en 7/8d de envasado, respectivamente, con valores inferiores en el film (datos no mostrados). El índice de rojo (a*) no fue afectado (Tabla 3) en el envasado CO+AM tras 5h blooming, mientras que en los otros SE disminuyó significativamente a partir de 1h de blooming, aunque con oscilaciones y tendencias diferentes y con el envasado CO+AM con valores significativamente inferiores al resto para cada tiempo de blooming, seguido del envasado a vacío. Paralelamente, el envasado en film presentó valores inferiores de a*. El índice de amarillo (b*) también presentó diferencias significativas entre SE (Tabla 3), aunque sin una tendencia clara entre ellos, y mostrando el envasado CO+AM valores intermedios. En cuanto al blooming, todos los SE mostraron valores oscilantes a lo largo del tiempo, siendo el efecto no significativo para los envasados en AM y CO+AM.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Honikel, K.O. (1998). Meat Sci. 49: 447-457. • Jenkins, W.A. and Harrington, J.P. (1991). Lancaster: Technomic Publishing Company. • Kerry, J.P., O'Grady, M.N., and Hogan, S.A. (2006). Meat Sci. 74: 113-130. • Luño, M., Beltran, J.A., and Roncales, P. (1998). Meat Sci. 48: 75-84. • McGeehin, B., Sheridan, J.J., and Butler, F. (2002). J. Of Food Eng. 52: 75-81 • Pfalgraf, A., Frigg, M., and Steinhart, H. (1995). J. of Agric. and Food Chem. 43:1339-1342 • Sorheim, O., Aune, T., and Nesbakken, T. (1997). Trends in Food Sci. and Tech. 8: 307-312.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado gracias a una beca de movilidad de estudiantes para obtener la mención europea en el título de doctor del M.E.C. y a la colaboración de la unidad de Calidad de carne del Ashtown Food Research Centre.

Tabla 1. Efecto del método de envasado (ME) y de la maduración (M) (valores de significación) en el pH y la dureza instrumental (media y diferencia del error estándar, DES) de carne de cordero.

		V	Film	AM	CO+AM	p	DES
pH	7d	5,63a	5,64b	5,65c	5,65c	***	0.03
	8d	5,67ab	5,69b	5,65a	5,66ab	***	0.00
p		ns	*	ns	ns		
DES		0,00	0,00	0,00	0,03		
Dureza (N)	7d	44,40c	31,12b	39,97bc	19,56a	ns	4.86
	8d	61,02c	46,08b	21,01a	34,16b	t	5.51
p		*	*	*	†		
DES		6.43	3.83	4.47	5.65		
Oxidación (mg MDA/kg carne)	7d	0,190b	0,222d	0,217c	0,168a	***	0.02
	8d	0,229b	0,251c	0,204a	0,214a	***	0.03
p		**	**	ns	**		
DES		0.04	0,01	0,04	0,01		

V: vacío; AM: atmósfera modificada; CO: monóxido de carbono; MDA: malonaldehído
ns: no significativo: t: $p \leq 0.1$; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; a-d: diferentes letras en la misma fila implican diferencias significativas entre métodos de envasado ($p \leq 0.05$)

Tabla 2. Efecto del método de envasado (ME) y de la maduración (M) (valores de significación) en las pérdidas por cocinado (media y diferencia del error estándar, DES) de carne de cordero.

	Vacío	Film	AM	CO+AM	p	DES
7d	30,78d	22,05b	17,03a	27,17c	**	0.09
8d	21,88c	18,72b	17,68a	31,45d	**	0.07
p	***	***	***	***		
DES	0.09	0.07	0.07	0.07		

AM: atmósfera modificada; CO: monóxido de carbono

** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; a-d: diferentes letras en la misma fila implican diferencias significativas entre métodos de envasado ($p \leq 0.05$)

Tabla 3. Efecto del método de envasado (ME) para cada maduración (M) a lo largo del blooming (B) (valores de significación) en el color de la carne de cordero medida mediante métodos instrumentales (media y diferencia del error estándar, DES).

M (d)	ME	Blooming (h)					p	DES	
		1	2	3	4	5			
a*	7	Vacío	12,97aby	13,40abcy	13,72bc	14,22c	12,85ay	*	0,17
		Film	10,57cx	10,30bcx	9,91bx	9,11ax	9,10aw	**	0,13
		AM	8,82aw	9,46bw	9,38bx	9,70bcx	9,97cx	**	0,08
		CO+AM	15,83az	17,39bz	17,42b	15,37az	16,96bz	**	0,21
		p	***	***	***	***	***		
	DES	0,16	0,09	0,24	0,17	0,20			
a*	8	Vacío	12,76cy	12,97cy	11,33aby	11,54by	10,22ay	**	0,25
		Film	10,58dx	9,79cw	8,69bx	8,41abx	7,83ax	***	0,15
		AM	12,22by	11,61ax	11,76aby	11,83aby	11,28ay	*	0,11
		CO+AM	14,05z	14,16z	13,88z	13,89z	13,81z	ns	0,10
		p	***	***	***	***	***		
	DES	0,14	0,21	0,15	0,07	0,33			
b*	7	Vacío	11,93axy	13,17bx	13,22by	13,53bz	12,17ay	*	0,19
		Film	13,58cz	13,89cy	13,42bcy	12,52ay	12,75aby	**	0,16
		AM	11,22bcx	11,77cw	11,25bcx	10,33ax	10,63abx	**	0,14
		CO+AM	12,65xyz	14,77bz	14,47by	13,08ayz	14,41bz	*	0,25
		p	**	***	**	***	***		
	DES	0,24	0,17	0,33	0,22	0,18			
b*	8	Vacío	11,43bx	11,88cx	10,39aw	10,57ax	10,51aw	***	0,08
		Film	13,98bz	13,98by	12,48az	12,73az	12,64az	**	0,11
		AM	12,54y	12,11x	12,08y	12,41z	12,30y	ns	0,14
		CO+AM	11,55x	11,70x	11,20x	11,71y	11,85x	ns	0,09
		p	***	**	***	***	***		
	DES	0,15	0,19	0,08	0,10	0,07			

AM: atmósfera modificada; CO: monóxido de carbono

ns: no significativo; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; a-c: diferentes letras en la misma fila implican diferencias significativas entre tiempos de blooming ($p \leq 0.05$); w-z: diferentes letras en la misma columna implican diferencias significativas entre tiempos de blooming ($p \leq 0.05$)

EFFECT OF PACKAGING METHOD ON LAMB QUALITY AT DIFFERENT AGEING TIMES

ABSTRACT. The effect of packaging (film, vacuum, modified atmosphere and CO pre-treatment + modified atmosphere) on the instrumental measurements of quality at 7 and 8d of ageing were evaluated in the *Longissimus dorsi* of lamb, and compared to non-packed meat. Quality was affected by both factors, with the CO pre-treated meat showing the greatest difference, especially in redness.

Keywords: CO treatment, blooming, charolaise crossed lamb, shelf-life

EFFECTO DEL TIEMPO DE EXPOSICIÓN AL MONÓXIDO DE CARBONO EN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CORDERO MADURADA A VACÍO

Muela, E.¹, O'Connor, D.I.², Sañudo, C.¹, Beltrán, J.A.¹ y Allen, P.²

¹ Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España. muela@unizar.es

² Ashtown Food Research Centre, Teagasc, Ashtown, Dublin 15, Ireland

INTRODUCCIÓN

Dado que la carne es un producto muy perecedero, cualquier aspecto relacionado con su conservación adquiere una importancia vital. En este sentido, el envasado es un método básico para mantener la calidad. El envasado a vacío es un sistema muy utilizado en la conservación en refrigeración a largo plazo (Kerry et al., 2006). Sin embargo, la formación de desoximioglobina da un color oscuro a la carne, lejos del atractivo color rojo brillante, el cual puede obtenerse con el uso de monóxido de carbono (CO) (Luño et al., 1998). Sin embargo, la UE ha prohibido su uso debido a su toxicidad (Sorheim et al., 1997) y al enmascarar la alteración del color, que es utilizado por el consumidor como índice de frescura. Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar el tiempo de exposición al CO óptimo para obtener un color deseable en carne de cordero a vacío.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para estudiar el efecto de 4 tiempos de exposición al CO (1, 3, 5, y 24h) en las medias instrumentales de calidad y en la calidad sensorial de carne de cordero posteriormente envasada a vacío (V), se utilizaron el músculo Longissimus dorsi (LD) derecho e izquierdo de una oveja (cruce comercial de raza Charolaise), obtenido 48h post sacrificio. Cada músculo se segmentó en porciones de 2.5 cm de grosor y se envasaron 2 muestras por bolsa. La exposición al CO se realizó en unas bolsas especialmente fabricadas a partir de bolsas de vacío, a las cuales se les añadieron unos conectores y unos tubos de entrada y salida, sellados con una pieza metálica. Tras envasar a vacío las bolsas con las muestras en su interior y los tubos cerrados por las piezas metálicas, para eliminar el aire en el interior de la bolsa, éstas se conectaron a una bombona que contenía CO (5:60:35 CO:CO₂:N₂), manteniendo un flujo de corriente durante 1 minuto tras el llenado de la bolsa. Las bolsas permanecieron el tiempo de exposición asignado en refrigeración (2-4 °C) y oscuridad, tras el cual, se abrieron y las muestras se envasaron a vacío (V) sin tocar la superficie de exposición al CO, manteniéndose en refrigeración (2-4 °C) y oscuridad hasta 14 d. Además, se incluyó una muestra control sin exposición al CO ni al vacío (0/0 CO/V), una muestra control para cada tiempo de vacío sin exposición al monóxido de carbono (0/7 y 0/14 CO/V) y un control positivo que permaneció 168h expuesta al CO y 7d a vacío.

En los días 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13 y 14 de envasado a vacío, 5 personas realizaron un test visual evaluando la aceptabilidad del color con una escala hedónica estructurada de 8 puntos (1: me desagradó extremadamente a 8: me agrada extremadamente) y la intención de compra (Si/No), para todos los tratamientos excepto el de 168h CO. A los 0d en la muestra control (0/0 CO/V) y a los 7 y 14d de maduración a vacío, se realizaron los análisis instrumentales de calidad. Una de las muestras se utilizó para la determinación del color (1 hora de blooming,) siguiendo el sistema CIE L*a*b* con un espectrocólorímetro portátil HunterLab MiniScan XE Plus 45/0-L (iluminante D₆₅ y observador a 10°). Tras este análisis, se midió el pH con un equipo Orion 250 A+ dotado de una sonda de penetración y se realizó el análisis de oxidación por la determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) descrito por Pfallgraf et al. (1995). La segunda muestra, se cocinó a 75 °C en un baño de agua hasta que alcanzó los 70 °C (medido con un termómetro de penetración) de temperatura interna, calculando las pérdidas por cocinado [PC= (Peso inicial-peso final/peso inicial)*100] y, tras ser refrigerada 5 minutos, se utilizó en el análisis de textura por el método de Warner-Bratzler (Honikel, 1998) con un Instron 5543, tomando la dureza como parámetro de referencia.

Los efectos del tiempo de exposición al monóxido de carbono (CO) y de la maduración a vacío (V) en las variables de análisis instrumental y visual fueron analizados con el programa SPSS 15.0 para Windows Vista. Para determinar la significación de los efectos CO y V (o su interacción) se aplicó un Modelo Lineal General. Al hallar una interacción significativa, se aplicó un segundo modelo, considerando el efecto fijo "tratamiento": 10 tratamientos, 5 CO (0, 1, 3, 5, 24h), cada uno con 2 V (7 o 14d). Para el test visual, se consideraron el efecto "día de maduración a vacío" (1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13 y 14) y CO. La media y la desviación estándar o la diferencia del error estándar se calcularon para cada variable. Para identificar diferencias significativas entre medias se aplicó el test de Duncan ($p \leq 0.05$). Por último, se calcularon las correlaciones entre variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores observados en la muestra sin exposición al CO ni maduración a vacío (Tabla 1) se encuentran dentro de los rangos observados por otros autores en razas de características similares.

El tratamiento (CO x V) tuvo un efecto significativo en todas las variables analizadas instrumentalmente (Tabla 2). El rango de *pH* se mantuvo entre 5.5 y 5.6, incluso tras 14d a vacío, lo cual implica una correcta conservación, considerando un valor de 5.8 como no deseable (Devine et al., 1993). En las variables de *color*, la luminosidad (L^*) de las muestras expuestas 24h CO y 14d V fue significativamente superior, mientras que las muestras sin exposición al CO mostraron valores inferiores. Paralelamente, los tiempos más elevados de exposición al CO (24 y 168h) mostraron valores significativamente inferiores en el índice de rojo (a^*), independientemente del tiempo a vacío, así como un tiempo de exposición al CO superior a 1h derivó en valores superiores de índice de amarillo, aumentando significativamente conforme lo hizo exposición al CO. Comparando con la muestra sin envasado ni exposición al CO, tanto a^* como b^* variaron notablemente. La *textura* mostró valores comprendidos entre 18 y 28 N, por lo que la carne puede considerarse como tierna, ya que se encuentra muy por debajo de los 45 N utilizados como referencia para considerar la carne de cordero como dura (McGeehin et al., 2002). Sin embargo, no existió una clara tendencia entre tratamientos. En cuanto a la *oxidación*, se observaron valores significativamente inferiores en las muestras de 14d a vacío, aunque no siguieron una clara distribución en función del tiempo de exposición al CO. Por último, en la capacidad de retención de agua, medida como *pérdidas por cocinado*, no se observó una tendencia clara y los valores permanecieron dentro de un rango aceptable (17 a 24%).

En el test de aceptabilidad visual (Tabla 3) la exposición al CO tuvo un efecto positivo, ya que las muestras 3 o 5h obtuvieron mayores porcentajes de intención de compra, especialmente a medida que aumentó el tiempo de maduración a vacío. El resto de tratamientos no siguieron una tendencia clara.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Devine, C.E., Graafhuis, A.E., Muir, P.D., and Chrystall, B.B. (1993). Meat Sci. 35: 63-77
- Honikel, K.O. (1998). Meat Sci. 49: 447-457
- Kerry, J.P., O'Grady, M.N., Hogan, S.A. (2006). Meat Sci. 74: 113-130
- Luño, M., Beltran, J.A., and Roncales, P. (1998). Meat Sci. 48: 75-84.
- McGeehin, B., Sheridan, J.J., and Butler, F. (2002). J. Of Food Eng. 52: 75-81
- Pflgraf, A., Frigg, M., and Steinhart, H. (1995). J. of Agric. and Food Chem. 43:1339-1342
- Sorheim, O., Aune, T., and Nesbakken, T. (1997). Trends in Food Sci. and Tech. 8: 307-312.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido realizado gracias a una beca de movilidad de estudiantes para obtener la mención europea en el título de doctor del M.E.C. y a la colaboración de la unidad de Calidad de carne del Ashtown Food Research Centre.

Tabla 1. Estadísticos descriptivos (media y desviación típica) de la calidad de la carne de cordero medida mediante métodos instrumentales de la muestra control (sin exposición al monóxido de carbono ni maduración a vacío)

pH	Color			Dureza (N)	Oxidación (mg MDA / kg carne)	Pérdidas por Cocinado (%)
	L*	a*	b*			
5,6±0,1	27,6±0,1	16,49±0,1	13,55±0,4	40,8±0,1	0,096±0,1	8,4±0,1

MDA: malonaldehído

Tabla 2. Efecto del tratamiento con monóxido de carbono previo al envasado a vacío (CO x V) (valores de significación) en la calidad de la carne de cordero medida mediante métodos instrumentales (media y diferencia del error estándar, DES).

V (d)	CO (h)	pH	Color			Dureza (N)	Oxidación (mg MDA / kg carne)	PC (%)
			L*	a*	b*			
7	0	5,51a	32,96a	13,40a	13,24a	28,03d	0,166c	22.82i
	1	5,55b	35,15b	17,39b	16,14cd	18,48a	0,284f	18.19d
	3	5,59d	38,90d	16,58b	16,12cd	26,71cd	0,195d	22.31g
	5	5,58cd	36,54bc	21,70c	18,15e	19,15a	0,248e	24.06j
	24	5,57c	39,25d	29,06d	21,04f	26,17cd	0,106b	18.48e
14	168	5,59d	37,43cd	34,30e	22,99g	22,66abc	0,167c	16.62c
	0	5,60d	34,72ab	12,71a	13,93a	19,77ab	0,040a	17.56d
	1	5,58cd	35,30b	14,19a	15,28b	26,01cd	0,058a	13.26a
	3	5,63e	34,56ab	17,21b	15,49bc	24,00bcd	0,104b	15.75b
	5	5,58cd	35,84bc	17,97b	16,34d	23,93bcd	0,042a	20.96f
	24	5,58cd	43,88e	20,49c	20,03f	21,97abc	0,042a	22.50h
	P	***	***	***	***	***	***	**
	DES	0.04	0.47	0.78	0.91	1.11	0.01	0.01

V: vacío; CO: monóxido de carbono; MDA: malonaldehído; PC: pérdidas por cocinado

** $p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$; a-j: diferentes letras en la misma columna implican diferencias significativas entre medias ($p \leq 0.05$)

Tabla 3. Intención de compra en el test visual (% Afirmativo)

CO/V	1d	2d	5d	6d	7d	8d	9d	12d	13d	14d
0 h	28,6	62,5	75	35,7	28,6	28,6	33,3	100	83,3	50
1 h	64,3	100	91,7	78,6	85,7	85,7	66,7	100	83,3	75
3 h	100	100	100	85,7	92,9	57,1	100	100	100	100
5 h	92,9	87,5	91,7	85,7	100	100	100	100	100	100
24 h	50	50	33,3	57,1	64,3	57,1	83,3	83,3	83,3	75

V: vacío; CO: monóxido de carbono

EFFECT OF CARBON MONOXIDE TREATMENT DURATION AND POSTERIOR VACUUM PACKAGING AGEING ON LAMB QUALITY

ABSTRACT. Lamb which had been pre-treated with carbon monoxide (CO), for 0, 1, 3, 5, 24 or 168 hours before subsequent vacuum packing and aging (7 or 14 days) was compared to non pre-treated meat. Quality of the *Longissimus dorsi* samples was accessed by instrumentation and sensory (visual) methods. CO pre-treatment had positive effects on colour measurements and sensory acceptance and had no negative effects on the other parameters measured.

Keywords: carboxymyoglobin, lamb quality, colour acceptance

CALIDAD SENSORIAL DE LECHALES DE RAZA OJINEGRA DE TERUEL

Panea, B.¹, Ripoll, G.¹, Ripoll-Bosch, R.¹, Blasco, I.¹, Faló, F.² y Joy, M.¹

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Avenida de Montañana, 930, 50059 Zaragoza. ²Agroji, Molinos (Teruel). bpanea@aragon.es

INTRODUCCIÓN

En España, la producción cárnica de algunas razas ovinas autóctonas se limita, casi exclusivamente, a un único producto, muchas veces avalado por una etiqueta oficial de calidad (IGP). Sin embargo, las nuevas tendencias del mercado fomentan la diversificación de los productos como medio para aumentar la cuota de mercado y las rentas. Por otra parte, el creciente precio de las materias primas para el cebo de corderos hace que la cría de los animales hasta peso de ternasco sea cada vez menos rentable. Por lo tanto, parece conveniente conocer las características de la carne de otras opciones productivas en comparación con las de productos ya instaurados en el mercado. El presente trabajo es parte del proyecto PET2006-0006-C03-01, titulado "La diversificación de producciones como alternativa de sostenibilidad de las explotaciones de raza Ojinegra de Teruel". El objetivo del presente trabajo fue valorar la calidad sensorial del lechal Ojinegro de Teruel con relación un lechal comercial de España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 12 machos animales de la raza Ojinegra de Teruel. Los animales fueron criados por la Asociación de Criadores de la raza en las condiciones habituales. Todos los animales fueron alimentados exclusivamente con leche materna y se sacrificaron con un peso vivo promedio de $10,6 \pm 0,89$ Kg. (media \pm d.e.) Las canales fueron colgadas por el tendón de Aquiles y refrigeradas 24 horas a 4°C. A las 24 horas tras el sacrificio se extrajo el lomo (*Longissimus lumborum*) de las medias canales izquierdas, se envasaron al vacío y se congelaron a -20°C.

Para el análisis sensorial es necesario tener un producto o un valor con el que comparar. En este caso la comparación lógica se debía hacer con el producto más fácilmente disponible en el mercado y que por tanto los consumidores conocen el producto. El lechal de raza Ojalada, que constituye la base de la IGP "Lechazo de Castilla y León" es el más frecuentemente disponible en las carnicerías por lo que se utilizó como referencia. Se diseñó una prueba sensorial en la que se compararon machos de ambas razas. Las muestras fueron probadas por un grupo de 8 miembros debidamente entrenados (ISO 8586-1:1993). Los catadores debían valorar los siguientes atributos: intensidad de olor a cordero, intensidad de olor a grasa, intensidad de olor a lana, terneza, fibrosidad, intensidad de flavor a cordero, intensidad de flavor a grasa, intensidad de flavor metálico, intensidad de flavor ácido, intensidad de flavor amargo y apreciación global. Para ello utilizaron una escala no estructurada de 100 puntos en la que 1 correspondía al valor más bajo y 100 al valor más alto para el atributo en cuestión.

Se realizó un PROC MIXED con SAS con el efecto raza como efecto fijo y el catador como efecto aleatorio. Las diferencias entre medias se consideraron significativas si $p < 0,05$. Por último, se calcularon correlaciones bivariadas de Pearson entre las variables.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la Tabla 1 se presenta las medias de cada atributo en función de la raza. Puede verse que la raza no afectó a ninguno de los atributos estudiados. Sólo se encontró una tendencia ($p=0,068$) para el olor a lana, que fue ligeramente inferior en los animales de raza Ojinegra de Teruel. El coeficiente de variación medio es del 53,8%, que es anormalmente alto incluso para el análisis sensorial (Campo *et al.*, 1999). Martínez-Cerezo *et al.* (2005) llegan a encontrar coeficientes de variación realmente elevados para algunos atributos (por ejemplo, 68% para el flavor a grasa y cercano al 100% para la aparición de olores extraños). Los corderos utilizados en el presente trabajo procedían de 8 explotaciones diferentes, por lo que es posible que parte de la variabilidad encontrada se deba a diferencias entre

explotaciones. En cualquier caso, los coeficientes encontrados en el presente trabajo podrían explicar en parte la ausencia de diferencias entre razas. El efecto de la raza sobre las características sensoriales de la carne ha sido ampliamente estudiado. En general, se acepta que hay diferencias de terneza entre razas debidas a diferencias en la madurez del animal y el estado de engrasamiento. En lechales se ha descrito que las razas más precoces y más engrasadas tienen una carne más tierna (Cerezo *et al.*, 2005). Las dos razas en estudio pertenecen al mismo tronco (*O.A. Ibericus*) y son de características muy parecidas, si bien suele considerarse que la Ojinegra es algo más precoz y la Ojalada algo más lechera que las de su mismo grupo (Sañudo, 2008). Sin embargo, el efecto de la raza sobre el olor de la carne es menos marcado y así, Cerezo *et al.* (2005) no encontraron diferencias en los atributos de olor o flavor entre lechales de las razas Churra, Merina o Rasa Aragonesa. Los valores encontrados en el presente trabajo están de acuerdo con los descritos por Alfonso (2000) en animales de la IGP “Lechazo de Castilla y León o por Martínez-Cerezo *et al.* (2005) en la raza Churra. Según Alfonso (2000), la carne de esta raza se caracteriza por la suavidad de su olor y flavor a cordero y su por elevada jugosidad y terneza.

En la Tabla 2 se presentan las correlaciones entre variables. Sólo se muestran las correlaciones significativas. La mayoría de las variables están correlacionadas entre sí siendo, en general, positivas. Sin embargo, la apreciación global se correlacionó negativamente con el olor a grasa, el olor a lana, la fibrosidad y casi todas las variables de flavor. De ello se puede deducir que el principal problema a nivel sensorial en la carne de cordero es en los defectos de olor/flavor. Sañudo *et al.* (2007) encontraron correlaciones muy altas ($r > 0.88$) entre la apreciación global y los demás atributos sensoriales. También se encontró una correlación negativa entre la fibrosidad y la terneza, lo cual es esperable. La correlación entre terneza y jugosidad fue positiva, pero menor de lo esperado (Alfonso, 2000).

A la vista de los resultados podemos concluir que el lechal de raza Ojinegra de Teruel podría ser un producto bien aceptado en el mercado.

Tabla 1. Notas medias y desviación típica de cada atributo en función de la raza

	Raza Ojinegra		Raza Ojalada (IGP “Lechazo de Castilla y León”)		significaci
	Media	Desviación típica	Media	Desviación típica	
Olor a cordero (1-100)	45,6	17,2	49,5	15,8	ns
Olor a grasa (1-100)	22,8	16,4	26,6	18,1	ns
Olor a lana (1-100)	10,8	12,8	14,5	13,3	P=0.068
Terneza (1-100)	60,5	13,9	60,2	15,5	ns
Jugosidad (1-100)	54,0	17,7	52,1	16,6	ns
Fibrosidad (1-100)	41,5	18,6	43,9	19,2	ns
Flavor.cordero (1-100)	64,7	12,2	63,6	12,9	ns
Flavor a grasa (1-100)	42,4	21,0	43,30	21,9	ns
Flavor metálico (1-100)	32,0	20,0	31,1	19,4	ns
Flavor ácido (1-100)	28,3	22,7	30,3	21,9	ns
Flavor amargo (1-100)	18,9	19,0	19,2	17,6	ns
Apreciación Global (1-100)	50,7	15,9	49,5	14,4	ns

ns.- no significativo

Tabla 2. Correlaciones entre variables. Sólo se muestran las correlaciones significativas

	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Olor cordero (1)	0,5	0,4	0,2							0,3	
Olor grasa (2)		0,4		-0,2	0,2		0,3				-0,2
Olor lana (3)				-0,3	0,2			0,2	0,2	0,4	-0,3
Terneza (4)				0,2	-0,4	0,2			-0,2		0,4
Jugosidad (5)						0,4	0,3			-0,2	0,3
Fibrosidad (6)						0,2	0,4	0,3	0,4	0,3	-0,4
Flavor cordero (7)							0,5				
Flavor grasa (8)									0,4		-0,3
Flavor metálico (9)									0,5	0,7	-0,5
Flavor ácido (10)										0,3	-0,6
Flavor amargo (11)											-0,4
Apreciación Global (12)											1

** La correlación es significativa al nivel 0,01. * En cursiva. La correlación es significativa al nivel 0,05

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfonso, M. Caracterización sensorial y aceptabilidad de la carne de doce tipos ovinos representativos de distintos sistemas de producción europeos. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria de Zaragoza. 337 pp.
- Campo, M.M., Sañudo, C., Guerrero, L., Serra, X., Panea, B., Olleta, J. L., Piedrafita, J., 1999. Variabilidad intrarracial en el análisis sensorial de siete razas-sistemas de producción españoles. ITEA 20, 83-85.
- Martínez-Cerezo, S., Sañudo, C., Medel, I., Olleta, J.L. 2005. Breed, slaughter weight and ageing time effects on sensory characteristics of lamb. Meat Science, 69, 571-578.
- Sañudo, C. 2008. Manual de diferenciación racial. Ed. Servet, Zaragoza. 557 pp.
- Sañudo, C., Alfonso, M., San Julián, R., Thorkelsson, G., Valdimarsdottir, T., Zygoyiannis, D., Stamataris, C., Piasentier, E., Mills, C., Berge, P., Dransfield, E., Nute, G.R., Enser, M., Fisher, A., 2007. Regional variation in the hedonic evaluation of lamb meat from diverse production systems by consumers in six European countries. Meat Science 75, 610-621.

Agradecimientos. Proyecto financiado por el proyecto PET2006-0006-C03-01

MEAT SENSORY QUALITY FROM SUCKLING LAMB'S FROM OJINEGRA DE TERUEL BREED. COMPARISON WITH IGP "LECHAZO DE CASTILLA".

We used 12 males suckling lambs from Ojinegra de Teruel, slaughtered at 10,6 kg live weight to study its sensory characteristics in comparison to PGI "Lechazo de Castilla y León" meat quality. At 24 h post-mortem, *L. lumbrorum* were excised, vacuum packed and frozen. 8 members trained panel evaluated lamb's odour intensity, fat odour intensity, wood odour intensity, tenderness, juiciness, fibrosity, lamb's flavour intensity, fat flavour intensity, metallic flavour intensity acid flavour intensity, bitter flavour intensity and overall liking using a non-structured 100-point scale. No differences were found for any of studied characteristics except for wood odour intensity that showed a tendency to signification, being lower in Ojinegra de Teruel Lambs. This kind of meat can show a good appreciation in the market.

Keywords: suckling, PGI, sensorial

CARACTERIZACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LA CALIDAD DE LA CARNE DE CATEGORÍA “TERNERA BLANCA” DE TERNEROS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA

Ripoll, G.¹, Casasús, I.¹, Albertí, P.¹ y Blanco, M.²

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avda. Montañana, 930, 50059, Zaragoza. gripoll@aragon.es. ²PCTAD-CITA.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de productos de calidad diferenciada que puedan tener un nicho de mercado propio es actualmente un objetivo prioritario del sector vacuno aragonés, como lo demuestra la solicitud de declaración de Indicación Geográfica Protegida para la "Carne de Vacuno Montañas de Aragón" (BOE 8/11/2008). En ella se contempla la producción de ternera categoría "Ternera Blanca" caracterizada por carne de color rosado, consistencia firme y ligeramente húmeda. Este tipo de carne es solicitado por su bajo contenido en grasa y suave flavor. El consumidor español prefiere que la carne de vacuno tenga color rosado y dicen estar dispuestos a pagar por carne de calidad (Corcoran *et al.*, 2001). Para la producción de este tipo de carne se pueden plantear varios tipos de manejo. El objetivo de este estudio fue caracterizar y estudiar la evolución del color, la textura y la capacidad de retención de agua de la carne de terneros de raza Parda de Montaña nacidos en primavera y otoño producidos en el Pirineo aragonés en el marco de la citada categoría de la IGP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 8 terneros machos de raza Parda de Montaña nacidos en primavera y 14 nacidos en otoño. Los terneros nacidos en primavera permanecieron estabulados con sus madres hasta mitad de junio, pastaron con ellas en puertos de montaña durante el verano y se sacrificaron en septiembre (lote PRI-LACT-PASTO). Los terneros nacidos en otoño permanecieron estabulados durante toda la experiencia; la mitad de ellos recibió pienso de iniciación (B-10, 11,5 MJ EM/kg MS, 16,3% PB) y crecimiento (B-11, 13,3 MJ EM/kg MS, 15,0% PB) durante la cría mientras la otra mitad únicamente consumió leche de la madre hasta el destete, en torno a los cinco meses de edad. En este momento, los terneros que recibieron el pienso durante la cría se sacrificaron (lote OTO-LACT-PIENSO) y los que no habían consumido pienso se destetaron y recibieron pienso de crecimiento y paja a voluntad hasta alcanzar el mismo peso al sacrificio que el lote anterior (lote OTO-ACAB).

Los terneros se sacrificaron en el matadero comercial homologado Mercazaragoza, según los procedimientos autorizados, y la canal se refrigeró durante 24 horas colgada por el tendón de Aquiles. Los parámetros productivos y de la canal se detallan en Blanco *et al.* (2011). Una vez oreadas las canales se extrajo el *M. longissimus thoracis* y se cortó en porciones que se colocaron en bandejas correspondientes a la determinación del color a 1, 2, 5, 7, 9 y 13 días de exposición. Las bandejas se cubrieron con film plástico transparente permeable al oxígeno para evitar su deshidratación, y se conservaron a <5°C en oscuridad. Se realizó la determinación del color de la carne con un espectrofotómetro CM-2600d (Iluminante D65, 8 mm apertura, 10°, UV 0%) desechándose posteriormente la bandeja correspondiente. Se utilizó el sistema de coordenadas tricromáticas CIE (1976) registrándose los valores de claridad (L*), índice de rojo (a*) e índice de amarillo (b*), calculándose el tono (H*) como $H^* = \arctangente(b^*/a^*) \times 57,29$ y la saturación (C*) como $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0,5}$. Tres filetes de 3,5 cm de espesor se envasaron al vacío y se maduraron durante 1, 7 y 14 días. El análisis de textura se realizó por medio de un Instron modelo 5543 dotado de una célula Warner-Bratzler en carne cocida al "baño María" a 75°C hasta alcanzar 70°C en el centro. De la muestra se cortaron un mínimo de 10 paralelepípedos siguiendo la dirección de las fibras musculares, y con una sección transversal de 1 cm x 1 cm. El corte con la cizalla se realizó perpendicularmente a la dirección de las fibras y se determinó el esfuerzo máximo en kg/cm². Las pérdidas por goteo se calcularon suspendiendo un filete de 100 g dentro de un bote estanco y pesándose a 2, 5 y 7 días. Todas las variables analizaron haciendo uso del paquete estadístico SAS (versión. 9.1). Los datos de pH se analizaron mediante un ANOVA (PROC GLM), y los datos de

evolución de color, esfuerzo máximo y capacidad de retención de agua mediante un análisis de varianza de medidas repetidas (PROC MIXED), con el lote como factor fijo y el animal como efecto aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los lotes tuvieron distinta evolución de color con el paso del tiempo (Tabla 1). El lote OTO-ACAB tuvo la mayor luminosidad hasta el día 9 pero tuvo un gran descenso a los 14 días (Figura 1). El tono evolucionó poco en el tiempo, y en el lote OTO-LACT-PIENSO aumentó ligeramente mientras que en OTO-ACAB disminuyó. La saturación disminuyó ligeramente con el tiempo y el lote OTO-ACAB tuvo los menores valores durante los 13 días. Los valores de L^* y C^* fueron superiores y el tono inferior a los encontrados para las categorías Ternera y Añejo de la misma raza (Blanco *et al.*, 2008; 2010) y para la categoría "Ternera Blanca" obtenida de terneros de la misma raza únicamente alimentados con leche artificial (Vieira *et al.*, 2005)

La evolución del esfuerzo máximo se muestra en la Figura 1. El lote PRI-LACT-PASTO fue claramente distinto de los demás lotes ($P < 0.05$) y valores similares a lo largo del tiempo. Sin embargo, los otros dos lotes mostraron una maduración típica de la carne de bovino pasando de 7 kg a 4,5 kg en dos semanas. Estos valores fueron menores a los habituales de Parda de montaña sacrificada a pesos mayores (Blanco *et al.* 2010) y similares a los encontrados en carne madurada 7 días procedente de terneros de categoría "ternera blanca" alimentados con leche artificial hasta un peso similar (Vieira *et al.*, 2005). Las pérdidas de agua por goteo aumentaron linealmente con el tiempo (Tabla 1) aunque hubo diferencias significativas entre lotes, con menores pérdidas en OTO-ACAB (entre el 1% a los dos días y el 4,5 % a los 7 días) que en los otros dos tratamientos. Para conseguir una carne clara y con pocas pérdidas el manejo OTO-ACAB sería el recomendado mientras que la carne procedente de los terneros nacidos en primavera y sacrificados al destete tras el tradicional pastoreo de verano no sería recomendable debido a su mayor dureza.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Blanco *et al.* 2008. *Animal*, 2, 779-789
- Blanco *et al.* 2008. *Livestock Science* 115: 226–234
- Blanco *et al.* 2010. *Meat Science* 84: 545-552
- Blanco *et al.* 2011. ITEA, XIV Jornadas sobre Producción Animal
- Corcoran *et al.* 2001. *Options Méditerranéennes A46*: 75-79
- Vieira *et al.* 2005. *Livestock Production Science*, 93: 263-275.

Agradecimientos: al personal laboral de la Finca Experimental La Garcipollera. Financiación procedente de INIA (RTA2010-00057) y fondos FEDER.

CHARACTERISTICS AND MEAT QUALITY EVOLUTION OF VEAL PRODUCED IN MEDITERRANEAN MOUNTAIN AREAS

ABSTRACT. There were tested three management systems with the aim of produce veal in Mediterranean mountain areas. First lot was born in spring and was raised grazing with their dams. Second lot was born in autumn and was raised feeding dams milk and concentrates. The third lot was also born in autumn and only fed milk until weaning and then fed concentrates until slaughtering. With the aim of complain requirements of meat of veal, the evolution of instrumental colour, drip losses and texture were measured. It was recommended the second lot by it pale and lighter meat with low drip losses while first lot was the less tender across time.

Keywords: *Water holding capacity, maximum stress, colour.*

Tabla 1. Significación del efecto lote y tiempo para las variables de color instrumental, esfuerzo máximo y pérdidas por goteo.

	Lote	Tiempo	Lote x Tiempo
Luminosidad (L*)	0,233	<0,001	<0,001
Tono (H*)	0,067	0,234	0,033
Saturación (C*)	0,016	<0,001	0,029
Esfuerzo máximo (kg/cm ²)	<0,001	<0,001	<0,001
Pérdidas por goteo ¹	0,017	<,001	0,142

¹ Referidas al peso inicial de la muestra

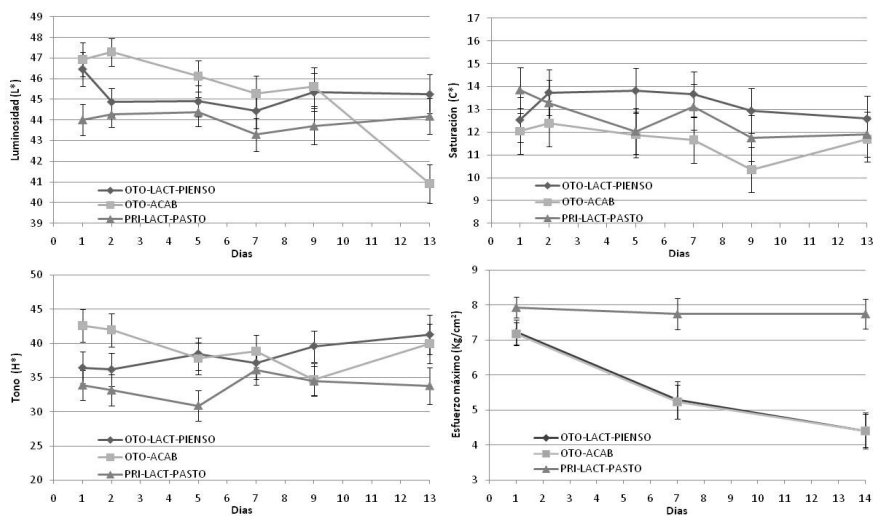


Figura 1. Evolución de la luminosidad, tono, saturación y esfuerzo máximo.

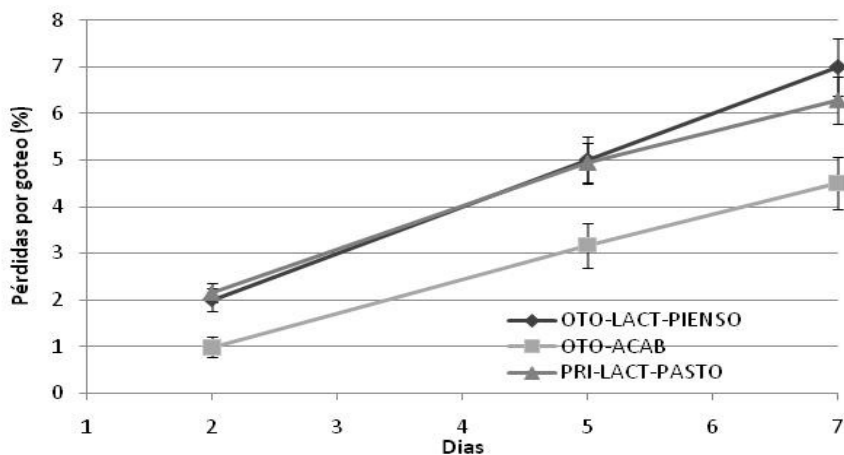


Figura 2. Evolución de las pérdidas por goteo¹.¹ Expresado en porcentaje de pérdidas de agua referidas al peso inicial de la muestra.

RENDIMIENTO COMERCIAL DE LAS CATEGORÍAS TERNERO, AÑOJO Y CEBÓN DE LA RAZA BOVINA SERRANA DE TERUEL

Sanz, A.¹, Ripoll, G.¹, Blasco, I.¹, Álvarez-Rodríguez, J.² y Albertí, P.¹

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. E-mail: asanz@aragon.es

² Universitat de Lleida, Av. Rovira Roure 191, 25198 Lleida

INTRODUCCIÓN

La raza Serrana de Teruel constituye una variante de las razas bovinas que se desarrollaron en las serranías del Sistema Central (Aparicio, 1944). Se trata de una población de extrema rusticidad adaptada a las duras condiciones de montaña seca, utilizada tanto para la producción de carne y piel como para el trabajo rural. En el marco de un proyecto de recuperación y caracterización de la raza, se estudió la calidad de la canal y de la carne de las categorías comerciales de ternero, añojo y cebón, como base para la obtención de productos cárnicos susceptibles de acogerse a distintivos de calidad diferenciada. Se presentan en esta comunicación y en el trabajo de Alberti et al. (2011) los resultados preliminares obtenidos en el ensayo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello, se utilizaron 20 terneros machos de raza Serrana de Teruel, adquiridos a la Asociación de ganaderos ASERNA y trasladados al CITA de Aragón (Peso vivo (PV) nacimiento 38 kg; edad destete 141 días; PV destete 148 kg; ganancia nacimiento-destete: 0.748 kg/d). Los terneros se sometieron a un cebo convencional con pienso y paja a voluntad desde su destete hasta alcanzar la edad objetivo al sacrificio, excepto entre los 15 y 20 meses de edad, en que añojos y cebones recibieron ensilado de cebada a voluntad y un suplemento de 3 kg concentrado/animal/día. Las categorías comerciales evaluadas fueron ternero, añojo y cebón (según el R.D. 75/2009), con edades a sacrificio de 12, 22 y 22 meses, y PV de 470, 720 y 660 kg, respectivamente. La castración quirúrgica en los terneros destinados a la producción de cebón se realizó a los 9 meses de edad. Se registró el peso semanal de los terneros, así como el espesor de la grasa dorsal medida mediante ultrasonidos (Aloka SSD-900, 7.5 MHz) sobre la 13ª costilla de los animales.

Tras el sacrificio, se registró el peso de las canales calientes y se aplicó una pérdida del 2% para estimar el peso de canal oreada. Tras 24 horas de oreo a 4°C, se realizó la clasificación subjetiva de las canales (Reglamento CEE 1026/91), registrando su grado de conformación (escala 1-18) y engrasamiento (escala 1-15). Se realizó el despiece de la media canal izquierda, y se determinó la composición comercial por el porcentaje de carne de las categorías extra, 1ª, 2ª y 3ª. A continuación, se estudió la composición tisular en porcentaje sobre la canal de carne comercializable, grasa de recorte y hueso. Las diferencias entre categorías se estudiaron mediante análisis de varianza. En las tablas se muestran las medias mínimo cuadráticas y el error estándar de la media (EE)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el primer año de vida, la ganancia de peso de los terneros fue de 1.5 kg/día; en el segundo año, la ganancia fue superior en los añojos que en los cebones (1.1 vs. 0.9 kg/día), como consecuencia de la castración. Las canales de los animales enteros (terneros y añojos) presentaron mayores valores en rendimiento y conformación, e inferior grado de engrasamiento que las procedentes del lote de cebones (Tabla 1), confirmando la hipótesis de que la castración favorecería la deposición de grasa intramuscular. En la Figura 1 se muestra la diferente pauta de deposición de la grasa dorsal observada en cebones y añojos. Hasta el momento de la castración ambos lotes presentaron una evolución similar en dicha reserva grasa. Posteriormente, los cebones depositaron mayor cantidad de grasa dorsal que los animales enteros. Durante el periodo final de acabado (2 meses), ambas categorías depositaron una cantidad similar de grasa, sin embargo, los añojos no compensaron el menor engrasamiento realizado en la fase de cebo con ensilado (entre los 15 y 20 meses de edad), y por tanto, los cebones presentaron mayores reservas de grasa dorsal en el momento del sacrificio.

Como era de esperar, las medidas objetivas de conformación de la canal se incrementaron con la edad de los animales. La castración afectó de forma significativa a la anchura y perímetro de la pierna, presentando los cebones inferiores valores a los animales añojos. El

mejor índice de compacidad de la canal se observó en la categoría de añojo, seguida de la categoría cebón, y por último, la de ternero.

En la Tabla 2 se muestra el despiece comercial y la composición tisular de las canales en los tres tipos comerciales estudiados. Los terneros de 12 meses presentaron mayor proporción de piezas de las categorías extra (solomillo) y primera a la observada en los animales enteros de 22 meses (añojo). En este sentido, la castración aumentó la proporción de carne extra recogida en los animales cebones, respecto de los añojos. Con relación a la composición tisular, las categorías ternero y añojo ofrecieron un porcentaje superior de carne respecto a la categoría cebón, que de nuevo mostró el porcentaje más elevado de grasa observado en el ensayo. De forma global en los tres tipos comerciales estudiados en la raza Serrana de Teruel, las canales presentaron un elevado porcentaje de hueso, superior al registrado en otras razas rústicas españolas, una proporción de grasa baja y un porcentaje de carne alto, intermedio a los valores obtenidos en el estudio de Alberti et al. (2001), para las razas rústicas y razas cárnicas españolas.

A partir de los resultados obtenidos con relación a la precocidad, grado de conformación y engrasamiento, y despiece de la canal, la raza se encuadraría dentro del grupo de razas rústicas bovinas españolas. A su vez, se abren alternativas de producción como el cebón, susceptibles de acogerse a distintivos de calidad diferenciada, que podrían suponer un incentivo para la explotación de la Serrana de Teruel frente a otras razas, lo que garantizaría su conservación a largo plazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí P., Sañudo C., Olleta J.L., Panea B., Lahoz F. 2001. Efecto del peso de sacrificio en el rendimiento cárnico de terneros de siete razas bovinas españolas. ITEA Vol. Extra 22, 511-513.
- Albertí P., Ripoll G., Blasco I., Álvarez-Rodríguez J., Campo MM., Kara S., Sanz A. 2011. Calidad de la carne de terneros, añojos y cebones de raza Serrana de Teruel. XIV Jornadas sobre Producción Animal. ITEA (en prensa).
- Aparicio Sánchez, G. 1944. Zootecnia Especial. Etnología Compendiada. Descripción y estudio de razas nacionales y extranjeras. Córdoba, España. 242 pp.

Agradecimientos: Financiado por el proyecto INIA PET2007-05-C03-01 y Fondos FEDER.

Tabla 1. Peso, clasificación y medidas morfométricas de las canales de los 3 tipos comerciales.

	Ternero	Añojo	Cebón	EE	Sign.
Peso vivo sacrificio (kg)	471.3c	720.3a	660.6b	18.7	***
Peso canal fría (kg)	277.4c	425.7a	365.2b	10.1	***
Rendimiento canal (%)	58.9a	59.1a	55.3b	0.4	***
Conformación (1-18)	10.3a	9.7a	8.3b	0.4	**
Engrasamiento (1-15)	5.0b	5.7b	8.0a	0.3	***
Longitud canal (cm)	121.7b	140.6a	137.7a	1.2	***
Anchura canal (cm)	58.6b	68.2a	67.4a	0.6	***
Profundidad interna pecho (cm)	32.7b	38.6a	39.3a	0.9	***
Longitud pierna (cm)	78.6b	89.4a	88.0a	0.9	***
Anchura pierna (cm)	27.3c	31.5a	29.8b	0.4	***
Perímetro pierna (cm)	114.8c	129.8a	122.8b	1.2	***
Profundidad pierna (cm)	42.9b	47.7a	46.0a	0.6	***
Índice de compacidad	2.13c	3.03a	2.64b	0.1	***

Dentro de cada parámetro, distinta letra entre tipos comerciales indica diferencias significativas (P<0,05)

Tabla 2. Despiece comercial y composición tisular de las canales de los 3 tipos comerciales estudiados.

(%)	Ternero	Añojo	Cebón	EE	Sign.
Extra (solomillo)	3.1a	2.8b	3.1a	0.07	*
Primera ¹	63.4a	61.4b	60.9b	0.4	**
Segunda ²	7.2	7.1	7.3	0.1	NS
Tercera ³	26.4b	28.8a	28.8a	0.5	**
Carne	74.4a	75.8a	71.4b	0.7	**
Grasa	5.5b	5.1b	8.4a	0.4	***
Hueso	20.1	19.1	20.3	0.5	NS

Dentro de cada parámetro, distinta letra entre tipos comerciales indica diferencias significativas ($P < 0,05$)

¹Lomo+Babilla+Tapa+Contra+Culata contra+Cadera+Rabillo+Redondo+Aguja+Espalda+Pez

²Morcillos+ Llana+Aleta+Brazuelo

³Falda+ Diafragma+ Filete de rellenar+ Pecho+ Pescuezo+ Costillar+ Trapillos+ Recortes

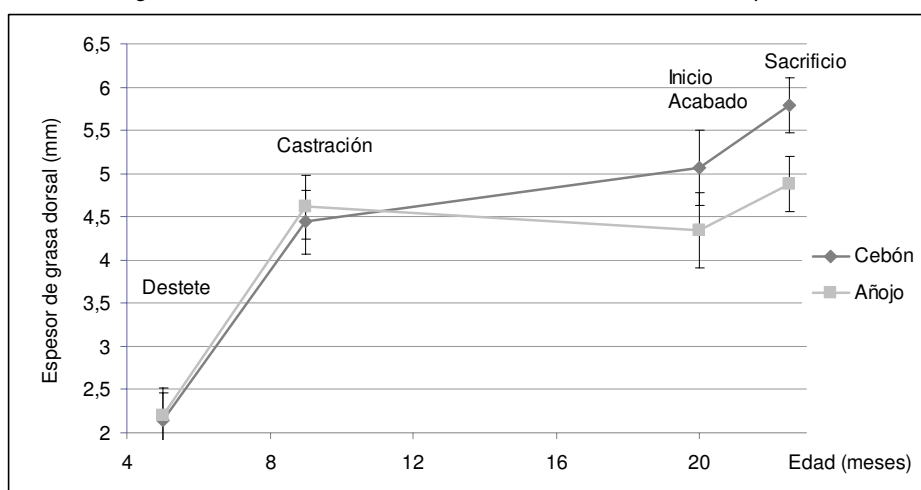


Figura 1. Evolución del espesor de la grasa dorsal (13ª costilla) en animales enteros (añojos) y castrados con 9 meses de edad (cebones).

PERFORMANCE OF YEARLING, BULL AND STEER OF SERRANA DE TERUEL BREED

ABSTRACT. The carcass quality from three commercial categories (yearling, bull and steer castrated at 9 months old) was studied within the framework of a recovery programme in the Serrana de Teruel breed. Age at slaughter was 12, 22 and 22 months, and live-weights were 470, 720 and 660 kg, in yearling, bull and steer, respectively. Twenty calves were managed under a conventional feeding programme of *ad libitum* concentrate and straw from 4 months old to slaughter, except between 15 and 20 months old, in which bulls and steers received *ad libitum* barley silage as forage supplemented with 3 kg of concentrate/head/day. The gain during the first year of age was 1.5 kg/day, whereas during the second year it was greater in bulls than in steers (1.1 vs. 0.9 kg/day), as a consequence of castration. Bull carcasses had greater dressing percentages and conformation scores and lower fatness degree than steers, confirming a castration-induced intramuscular fat deposition. Considering these results, Serrana de Teruel breed falls within the group of local Spanish bovine breeds. These studies should provide the conditions for a labelled beef product that allows the farmer's survival and the assurance of Serrana de Teruel breed conservation for a long term.

Keywords: characterization, local breed, carcass, castration

CALIDAD DE LA CARNE DE TERNEROS, AÑOJOS Y CEBONES DE RAZA SERRANA DE TERUEL

Albertí, P.¹, Ripoll, G.¹, Blasco, I.¹, Alvarez-Rodríguez, J.², Campo, M.M.³, Kara, S.¹ y Sanz A.¹

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. palberti@aragon.es

² Universitat de Lleida, Av. Rovira Roure 191, 25198 Lleida

³ Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza.

INTRODUCCIÓN

La Serrana de Teruel es una raza en peligro de extinción. En el marco de un proyecto de caracterización de la raza, se han estudiado los parámetros productivos de animales sacrificados a tres categorías comerciales: Ternero de 12 meses, Añojo de 22 meses y Cebón de 22 meses (Sanz et al., 2011). En esta comunicación se presentan los resultados obtenidos en el estudio de la calidad de la carne de estas tres denominaciones de venta de la raza, de la que no existen datos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Siete animales machos enteros fueron sacrificados a los 12 meses de edad (T12, ternero), otros 6 machos enteros (A22, añojo) y siete castrados (C22, cebón) a los 22 meses de edad. A las 24 horas del sacrificio, se midió el pH en el músculo a la altura de la 10ª costilla y el color de la grasa subcutánea. A continuación, se registró la evolución del color de la carne hasta los 15 días con un espectrocolorímetro Minolta CM2600d en carne envasada en film permeable al oxígeno y mantenida en oscuridad a <4°C. Se calculó el tono, el croma y la estimación del contenido en pigmentos carotenoides en la grasa (SUM) (Prache y Theriez, 1999). La Capacidad de retención de agua (CRA) se midió por pérdidas de goteo en un filete de 100 g.

Para estudiar la dureza de la carne se envasaron al vacío tres filetes de 3,5 cm de espesor y se maduraron durante 1, 7 y 14 días. El análisis de textura se realizó por medio de un Instron modelo 5543 dotado de una célula Warner-Bratzler en carne cocida. Se realizó una valoración de la calidad sensorial de la carne madurada a 1, 7 y 14 días, con un panel entrenado de 9 personas, valorando los atributos en una escala de 10 puntos. Las variables se analizaron mediante el paquete estadístico SAS (análisis de la varianza, PROC GLM). En el caso de los datos de evolución de color y esfuerzo máximo se aplicó un análisis de varianza de medidas repetidas (PROC MIXED).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH a las 24 h del sacrificio fue de 5,6 de media; no fue significativamente distinto entre las tres categorías comerciales, y evidenció que los animales que no habían sufrido estrés previo al sacrificio. La capacidad de retención de agua tampoco varió significativamente entre lotes y fue del 3,2% de agua exudada a los 5 días.

La grasa subcutánea (Tabla 1) de los terneros de doce meses fue más luminosa y blanca que la de los añojos y los cebones de 22 meses. Los terneros de 12 meses sólo consumieron pienso, mientras que los animales de 22 meses consumieron una dieta mixta con silo de pradera, por ello la mayor pigmentación de estos animales se debió posiblemente más al acumulo de pigmentos procedentes de la dieta que a un efecto de la edad.

En la evolución del color de la carne envasada en film permeable al oxígeno se apreció que la carne de los terneros de 12 meses fue la más pálida, ya que tuvo menor croma (Figura 1) y mayor claridad y tono que las carnes de las otras dos categorías. La carne del añojo de 22 meses fue una carne roja, determinada por su menor claridad y menor tono, mientras que la carne de cebón de 22 meses presentó una carne con un color rojo más vivo debido a su mayor croma. De la gráfica se deduce que su vida útil, envasada y cubierta en film, estaría entre 5 y 8 días.

La dureza instrumental de la carne de ternero y añojo (Figura 2) disminuyó con el tiempo de maduración mientras que, sorprendentemente, la carne de cebón fue la menos dura en los tres tiempos estudiados, y permaneció estable. La carne de añojo fue más tierna que la

de ternero a 1 y 7 días de maduración, desapareciendo esa diferencia a los 14 días. La dureza a los siete días de la carne de los añojos fue algo menor que la obtenida por Asenjo (1999) en animales de raza Serrana Negra (7,2 y 7,7 kg/cm², para pienso comercial y natural) y mayor a los obtenidos con otras razas españolas (Sañudo et al., 2004).

En la Tabla 2 se presenta la valoración de la calidad sensorial de la carne de las tres categorías comerciales, maduras a 1, 7 y 14 días. Los resultados muestran que el tiempo de maduración afectó a la valoración sensorial de la carne, ya que aumentaron significativamente las notas de ternereza y aceptación global, y disminuyó la puntuación de fibrosidad, no afectando a las notas de olor o flavor de la carne. La carne de añejo fue la mejor valorada por su mayor ternereza, jugosidad, aceptación global y menor fibrosidad. La carne de cebón fue la peor valorada por su menor ternereza, jugosidad, aceptación global, mayor fibrosidad, olor a vacuno y a rancio. La carne de ternero presentó valores intermedios entre las dos carnes anteriores. Cabe destacar que la valoración sensorial de los atributos ligados a la textura (ternereza y fibrosidad) de estas carnes dio resultados totalmente dispares a los obtenidos en la valoración instrumental realizada con el equipo Instron. Quizás los pocos efectivos de la raza puedan estar condicionando de alguna manera los incoherentes resultados obtenidos y por ello, para confirmar los resultados, se evidencia la necesidad de seguir estudiando la calidad de la carne de esta raza.

De los resultados de este estudio se puede concluir que la raza Serrana de Teruel produce una carne de color rojo que envasada en film se conserva hasta los 8 días. Es una carne que necesita un tiempo de maduración largo, en torno a 14 días. La categoría añejo fue la mejor valorada por el panel sensorial.

Tabla 1. Color de la grasa subcutánea.

	T12	A22	C22	e.e.	sig
L*	72.84a	71.39ab	69.40b	0.771	*
a*	1.86b	3.81a	2.40b	0.346	***
b*	10.50b	13.23a	10.39b	0.439	***
Tono	79.83	73.95	76.95	1.806	ns
Croma	10.68b	13.78a	10.73b	0.434	***
SUM	194.1a	355.1c	246.4b	12.01	***

Tabla 2. Panel sensorial de la raza Serrana de Teruel.

	Categoría de bovino (C)			s.e.	Tiempo maduración (M)			s.e.	C	M	CxM
	Ternero	Añejo	Cebón		1d	7d	14d				
	12m	22m	22m								
Ternereza	4.0b	5.0a	3.3c	0.20	3.3b	4.2a	4.7a	0.20	***	***	ns
Fibrosidad	5.2a	4.1b	5.7a	0.21	5.7a	4.8b	4.4b	0.20	***	***	ns
Jugosidad	4.1b	4.7a	3.8c	0.14	4.0	4.2	4.4	0.14	***	ns	ns
Intensidad olor											
Vacuno	3.6b	3.5b	3.9a	0.09	3.6	3.8	3.7	0.09	*	ns	ns
Grasa	2.1	1.9	2.2	0.09	2.1	2.1	2.0	0.09	ns	ns	ns
Lácteo	2.6a	1.8b	2.3a	0.12	2.3	2.2	2.2	0.12	*	ns	ns
Rancio	1.7ab	1.5c	1.8a	0.10	1.6	1.6	1.8	0.10	*	ns	ns
Intensidad flavor											
Vacuno	4.5	4.7	4.6	0.12	4.4	4.8	4.7	0.12	ns	ns	ns
Grasa	3.6	3.8	3.5	0.10	3.6	3.6	3.6	0.10	ns	ns	ns
Lácteo	2.5ab	2.5a	2.3b	0.07	2.4	2.5	2.4	0.07	*	ns	ns
Ácido	3.2a	2.7b	3.2a	0.11	3.0	3.3	2.7	0.11	*	ns	ns
Acep. Global	3.6b	4.9a	3.5b	0.14	3.7b	4.0ab	4.2a	0.14	***	*	ns

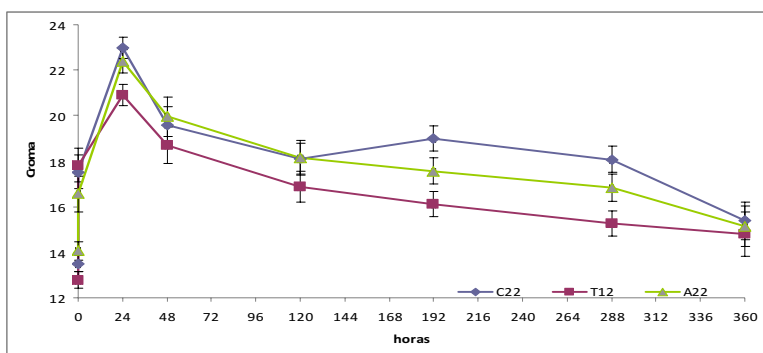


Figura 1. Evolución del croma del color de la carne envasada en film. (T12 ternero 12 meses; A22 añojo 22 meses; C22 cebón 22 meses).

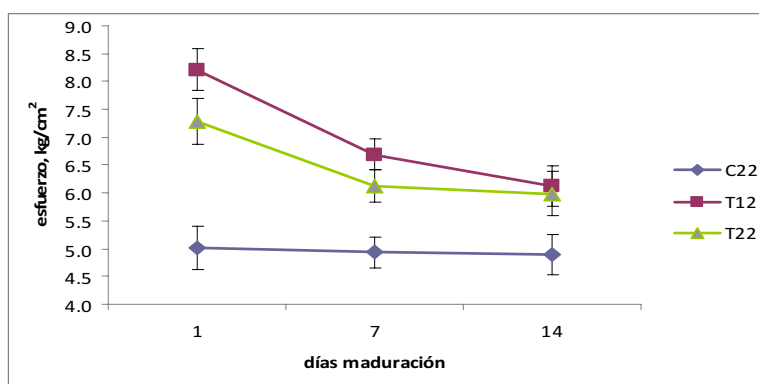


Figura 2. Evolución de la dureza instrumental de la carne de las tres categorías.

Agradecimientos: Financiado por el proyecto INIA PET2007-05-C03-01 y Fondos FEDER.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

●Asenjo B. (1999). Efecto de la raza y de la alimentación en los parámetros productivos y de calidad de canal y de carne en añojos de razas Charolés y Serrana Soriana. Tesis Doctoral, Universidad de Valladolid. 225 pp. ●Prache y Theriez (1999). Traceability of lamb production system: carotenoids in plasma and adipose tissue. *Animal Science* 69, 29-36. ●Sanz A. et al. (2011). Rendimiento comercial de las categorías ternero, añojo y cebón de la raza bovina Serrana de Teruel. XIV Jornadas sobre Producción Animal. ITEA (en prensa). ●Sañudo et al. (2004). The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science* 66, 925-932.

MEAT QUALITY OF YEARLING, BULLS AND STEERS OF SERRANA DE TERUEL BREED

ABSTRACT. The meat quality from three commercial categories (yearling, young bull and steer, castrated at 9 months old) was studied. Ages at slaughter were 12, 22 and 22 months, and live-weights were 470, 720 and 660 kg, in yearling, bull and steer, respectively. The Serrana de Teruel breed produces meat of red colour that packed in film wrapped trays can be commercialized until 8 day. The meat needs a long aging time about 14 days. The young bull meat commercial category was the best sensory valued.

Keywords: meat, texture, sensory.

CALIDAD DE LA CARNE DE TRES CATEGORÍAS COMERCIALES DE RAZA PIRENAICA

Albertí, P.¹, Ripoll, G.¹, Casasús, I.¹, Panea, B.¹ y Blanco, M.²

¹ CITA de Aragón. Avda. Montañana, 930 50059 Zaragoza ² PCTAD-CITA. palberti@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La canal y la carne de añojos de raza Pirenaica presentan escaso engrasamiento, al igual que otras razas cárnicas especializadas. La calidad de la carne está influida por el nivel de engrasamiento, aunque su efecto positivo a veces es pequeño (Wood, 1990). En la categoría “Añojo” están tanto machos como hembras sacrificados entre 12 hasta 24 meses de edad (Real Decreto 75/2009), sin embargo, su estado de engrasamiento variará, ya que las hembras tienden a engrasar antes que los machos, con lo cual, el consumidor encuentra en la carnicería carne cuya denominación de venta es Añojo pero cuyas características pueden variar en función del sexo del animal. El engrasamiento puede modularse también modificando el estado hormonal de los animales, por ejemplo mediante la castración de los terneros machos, dando lugar a un producto diferenciado bajo la categoría comercial “Cebón” (Real decreto 75/2009). El objetivo de este trabajo fue estudiar las características de calidad de la carne de machos enteros, hembras y cebones de raza Pirenaica cebados con pienso desde los 8 meses hasta su sacrificio (475 kg).

MATERIAL Y MÉTODOS

En este ensayo se utilizaron tres lotes de ocho animales, machos jóvenes enteros, machos jóvenes castrados a los 7 meses de edad y hembras, que fueron cebados con pienso y sacrificados al alcanzar los 470 kg de peso vivo. Los parámetros productivos y las características de las canales se detallan en Albertí y cols. (2010).

A las 24 horas del sacrificio se tomaron muestras del músculo *Longissimus dorsi* para las pruebas de calidad de la carne. De la zona lumbar izquierda se tomó un filete de 3 cm de espesor para evaluar el color de la carne a las 24 y 48 horas después del fileteado y mantenidos en refrigeración (< 4^o C) y oscuridad, en bandeja cubierta con film permeable al oxígeno. En ambos momentos, se midió la claridad (L*), el índice de rojo (a*) y el índice de amarillo (b*) con un espectrocolorímetro Minolta 2600d, y se calcularon el croma ($C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$) y el tono ($h = \arctg(a^*/b^*) \times 57,29$). Asimismo, se midió el color de la grasa subcutánea a las 24 h del sacrificio. Además, se envasaron al vacío dos filetes de 3,5 cm de espesor y se maduraron durante 7 y 14 días, para realizar el análisis de textura, en carne cocida, por medio de un Instron modelo 5543 dotado de una célula Warner–Bratzler. Otro filete se empleó para determinar la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular por cromatografía de gases con un detector de ionización de llama siguiendo el método de Bligh y Dyer (1959).

Las variables analizaron mediante el paquete estadístico SAS, realizando el análisis de la varianza (PROC GLM).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se detallan los valores medios de los parámetros del color de la carne de las tres categorías comerciales. El efecto de la categoría fue significativo mientras que no lo fueron ni el tiempo (24 vs. 48 h) ni la interacción categoría por tiempo. Se deduce que en las tres categorías de carne el color agradable al consumidor propio de la oximioglobina se mantuvo entre las 24 y 48 horas.

En relación a la carne de la categoría Añojo de macho (A), la carne de la categoría añojo de hembra (E) fue ligeramente más pálida y luminosa (menor claridad y tono), mientras que la de cebón (C) fue de color más vivo debido a su mayor croma. No obstante, a pesar de que las diferencias de color fueron significativas entre las tres categorías, éstas fueron mínimas,

y comercialmente se puede decir que al ojo del consumidor estas pequeñas variaciones en el aspecto del color de las tres categorías fueron todas agradables. El color de estas carnes se correspondería con una carne rosada o pálida en relación a otras razas españolas (Albertí y cols., 2003).

La grasa de los añojos machos tuvo mayor claridad que la de la hembra o el cebón (tabla 2). Aunque no se hallaron diferencias significativas, la pigmentación de la grasa de la hembra tendió a un menor croma y tono que la grasa de las otras categorías y su color podría definirse como crema mientras que la grasa de los añojos machos o los castrados fue más blanco-rosada.

El estudio de la dureza instrumental de la carne madurada 7 y 14 días no mostró diferencias significativas entre categorías (tabla 3), tiempo de maduración o su interacción. Esta carne maduró rápido ya que a partir de los 7 días ya alcanzó un valor medio de esfuerzo (*stress*) de 4,5 kg/cm², que se corresponde a carnes tiernas (Sañudo y cols., 1998; Panea, 2001), y a partir de ese momento ya no siguió disminuyendo su dureza. Aunque no se dieron diferencias significativas entre las carnes de las tres categorías, la carne de la hembra tuvo el menor valor de dureza, seguida de la de cebón y por último del macho entero, lo que estaría en relación inversa a la deposición de grasa de la 6ª costilla y de la canal, baja en el macho y mayor en la hembra y el cebón (Albertí y cols., 2010).

El porcentaje de grasa intramuscular y su composición en ácidos grasos varió significativamente entre las tres categorías de carnes (tabla 4). La carne del añojo macho fue la menos engrasada y la que presentó más ácidos grasos poliinsaturados y más n-3 y n-6. La grasa de la hembra tuvo un mayor porcentaje de ácido linoleico conjugado (CLA) al que le suponen efectos beneficiosos para la salud humana, aunque no existen evidencias convincentes de ello (EFSA, 2010). Las tres carnes presentaron una relación n-6/n-3 muy alta debido a que fueron cebados con pienso concentrado con alta proporción de cereales y estos son ricos en n-6 y pobres en n-3. Lo recomendable es que los n-3 sean más altos para que esa relación esté por debajo de 5.

En conclusión, los tres tipos de carne de raza Pirenaica presentan una carne rosada, tierna y que madura rápido, con un nivel de engrasamiento distinto según sea de añojo macho, que es la más magra, de añojo hembra que es algo más engrasada o de cebón, que tiene un engrasamiento intermedio. Con ello el consumidor puede elegir entre tres categorías de carne de similares características cualitativas pero de distinto engrasamiento.

Tabla 1. Color de la carne de las tres categorías.

	Categoría			E.E.	Sig
	hembra	macho	castrado		
	E	A	C		
L*	42,9a	39,9b	41,1ab	0,62	***
C*	18,2b	17,8b	21,0a	0,53	***
h	22,8b	29,1a	28,4a	0,97	***

Tabla 2. Color de la grasa subcutánea de las tres categorías.

	Categoría			E.E.	Sig
	hembra	macho	castrado		
	E	A	C		
L*	66,2b	70,9a	66,2b	1,04	*
C*	8,3	11,3	10,7	0,76	ns
h	65,3	70,8	69,0	2,45	ns

Tabla 3. Textura de la carne madurada siete días de las tres categorías

	Categoría			E.E	Sig	Tiempo		E.E.	Sig.
	E	A	C			7d	14d		
Esfuerzo, kg/cm ²	4,1	4,9	4,6	0,24	ns	4,5	4,4	0,2	ns

Tabla 4. Composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular del músculo Longissimus dorsi.

categoría	Añojo E hembra	Añojo A macho	Cebón C castrado	E.E.	Sig.
N	8	8	8		
Grasa intramuscular, % MF	2,8b	1,0a	1,5a	0,21	***
Saturados (S), %	47,3	45,0	48,2	0,91	ns
Monoinsaturados, %	46,5a	38,7b	42,7ab	1,14	***
Poliinsaturados (P), %	6,2b	16,2a	9,1b	1,02	***
P/S	0,13b	0,36a	0,19b	0,03	***
n-6	5,4b	15,0a	8,2b	0,97	***
n-3	0,4b	0,9a	0,5b	0,06	***
n-6/n-3	14,2b	16,5a	15,0ab	0,53	*
CLA, C18:2 n-7(9c-11t), %	0,4a	0,3b	0,3b	0,02	*

Agradecimientos: Financiación procedente de INIA (RTA2010-57, RZP2009-5) y FEDER.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

• Albertí P., Casasús I., Ripoll G., Panea B., Blanco M. 2010. II Congreso Nacional de Zootecnia. FEAGAS, libro de actas. pp 112-115. • Albertí P., Ripoll G., Sañudo C., Olleta JL., Panea B., Lahoz F. 2003. ITEA vol extra 24, 73-75. • Bligh E.G., Dyer W.J. 1959. Can J. Biochem Physiol., 37, 911-917. • EFSA 2010. Journal 8(3):1461, 107pp. • Panea 2001. Tesis Doctoral Universidad de Zaragoza 226pp. • Sañudo C., Albertí P., Campo MM., Olleta JL., Panea B. 1998. Archivos de Zootech., 48: 397-402. • Wood JD.1990. Reducing fat in meat animals 344-397.

BEEF QUALITY OF THREE COMMERCIAL CATEGORIES FROM PIRENAICA BREED

ABSTRACT.

Carcass and meat of Pirenaica growing bulls usually has scarce subcutaneous and intramuscular fat, which can hinder meat quality. In order to increase it, bulls can be castrated or females can be fattened. To compare meat quality of three commercial categories, 8 young male bulls (A), 8 female nulliparous (E) and 8 castrated male (C) were fed concentrates until slaughter at 470 kg. The three meat categories of Pirenaica breed present a red-pale meat, tender of a rapid ageing time (7 days). Intramuscular fat content was different according to the category: leaner for young male, slightly fatter for female and intermediate for castrated. Intramuscular fat profile also showed differences, young male had lower percentage of monounsaturated fatty acids and greater percentage of polyunsaturated fatty acids than females. The consumer can choose the marbling in high quality meat, with similar colour and texture.

Keywords: meat colour, fattening, shelf life, fatty acids.

CARACTERÍSTICAS AL SACRIFICIO DE CANALES DE “CABRITO TRANSMONTANO”

Teixeira, A., Fernandes, B. y Rodrigues, S.

Centro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia Apt 1172 5301-855 Bragança, Portugal. teixeira@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

El “cabrito transmontano” es uno de los dos productos con denominación protegida (DOP) portugueses con una importancia cada vez mayor para los diversos segmentos de la filera, desde del productor al consumidor. Según el cuaderno de especificaciones se designa por “CABRITO TRANSMONTANO”, la canal de animales de la raza Caprina Serrana, de ambos sexos, alimentados a base de leche materna, con treinta a noventa días de edad y creados en las condiciones agroecológicas del solar de la raza en el NE de Portugal.

Particularmente para el agrupamiento de productores y para la cooperativa de comercialización que le está asociada, resulta importante evaluar las características y tipos de canales comerciales preferidos y sus respectivos destinos.

Así el objetivo del presente trabajo es contribuir al mejor conocimiento de las características carniceras del tipo de animal comercializado.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio utilizó la base de datos de la Asociación Nacional de Capricultores de la Raza Serrana (ANCRAS) entre los años 1998 y 2009, para las variables peso vivo, peso canal y peso canal fría y rendimiento comercial. De acuerdo con la época del año, mes de sacrificio, y destino se ha realizado un análisis de varianza. Se ha usado el programa SPSS, versión 18 y las medias han sido comparadas por el test de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presentan los porcentajes de sacrificios en las distintas épocas del año (1 - meses de Noviembre a Enero, 2 - meses de febrero a mayo, 3 - junio y agosto y 4 - septiembre a octubre), bien como los porcentajes de canales comercializadas en los distintos destinos (1 - autoconsumo, 2 - restaurantes, 3 – al detalle y 4 - no identificado). De su análisis se verifica que la principal época de venta de cabritos corresponde a los meses de febrero a mayo coincidiendo con festividades de Carnaval y Pascua, confirmando lo indicado por Teixeira (2003 y 2009). En relación al destino comercial de los cabritos confirma que la restauración y la venta al detalle son los principales.

En la tabla 2 se muestran las medias y desviación estándar para las variables peso vivo, peso canal y rendimiento con la significación para los efectos mes y destino. De los resultados del test Tukey verificamos que los cabritos sacrificados en los meses de mayo a julio presentan, significativamente, un mayor peso vivo frente a los sacrificados en los meses de octubre a enero (10,2 frente a 8,4 kg, respectivamente) a lo que corresponden los pesos de canal de 5,6 y 4,8 kg. Los datos confirman lo indicado por el sistema tradicional de producción caprina en el NE de Portugal indicado por Jiménez-Badillo et al. (2009). En relación al rendimiento fueron las canales de los cabritos más pesados las que presentaron un valor significativamente superior, 56% contra 53%.

Al observarse un efecto significativo del destino para todas las variables estudiadas, en la tabla 3, verificamos que son las canales con destino a la restauración las que son más pesadas con un valor medio de 5,4 kg, en cuanto que las canales de autoconsumo son las más ligeras, 4,9 kg, lo que confirma lo indicado por Teixeira (2009) que los restaurantes rentabilizado un mejor rendimiento en canal (56%) prefieren las canales más pesadas. El autoconsumo correspondiendo a una tradición secular de cocinar el cabrito asado al horno, prefiere las canales más ligeras conforme señalado por Rodrigues y Teixeira (2010).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Jiménez-Badillo, M.R., Rodrigues, S., Sañudo, C., and Teixeira, A., 2009. Non-genetic factors affecting live weight and daily gain weight in Serrana Transmontano kids. *Small Ruminant Research* 84: 125–128.
- Rodrigues S. and Teixeira A., 2010. Consumers' preferences for meat of Cabrito Transmontano. Effects of sex and carcass weight. *Spanish Journal of Agricultural Research* 8(4): 936-945.
- Teixeira, A., 2003. Goat Sector in Portugal. *International Goat Association Newsletter*, February, pp. 15–17.
- Teixeira, A., Delfa, R., Albertí, P., 1998. Influence of production factors in the characteristics of meat from ruminants in Mediterranean areas. *Proceedings of the International Symposium on the Basis of the Quality of Typical Mediterranean Animal Products*. Badajoz and Zafra, Spain, 29 September–2 October 1996. EAAP Publication No. 90. The Netherlands: Wageningen Pers. 315–319.

Tabla 1. Porcentaje de sacrificios e destino en función de la época del año

Época	Destino	% Canales	% Sacrificios
1	1	3,6	30,1
2	2	28,5	43,2
3	3	59,2	14,9
4	4	8,6	11,9

Tabla 2. Características de las canales. Efecto de la época del año y destino

Efectos	N	Peso vivo (kg)	Peso canal (kg)	Rendimiento (%)
	11908	9,4 ± 1,8	5,2 ± 1,01	54 ± 0,04
Época		**	**	**
Destino		**	**	NS
Época x Destino		NS	NS	**

*** indican diferencias significativas, con mínimo $P \leq 0,01$; NS indica No significativo*

Tabla 3. Características de las canales. Efecto de la época del año y destino

	Época				Destino			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Peso vivo	8,8a	9,6b	10,2c	8,4a	9,2a	9,3ab	9,5b	9,3ab
Peso Canal	4,8a	5,3b	5,6b	4,8a	4,9a	5,4b	5,3b	5,2ab
Rendimiento	0,53a	0,54ab	0,54ab	0,56b	0,51a	0,56b	0,53a	0,55b

Letras distintas en la misma línea indican diferencias significativas, con mínimo $P \leq 0,01$

CARCASS CHARACTERISTICS AT SLAUGHTER OF “CABRITO TRANSMONTANO”

ABSTRACT.

The aim of this paper is to contribute to a better understanding of the butcher characteristics of the type of animal commercialized. This study used the database of the National Association of Raza Serrana Caprincultores (ANCRAS) between 1998 and 2009, for live weight, carcass weight and killing-out percentage. The main selling season of kids is for the months of February to May to coincide with Carnival and Easter holidays. Regarding the kids consumer destination it confirms that the restaurants are the highest consumers. Data suggested a greater live weight of slaughtered between May and August compared to the months from October to January (10.1 vs 8.4 kg, respect) to the corresponding carcass weights of 5.6 and 4,7 kg. Carcasses preferred by restaurants are the heavier ones.

Keywords: *cabrito, live weight, carcass, quality*

Patología animal

CARACTERIZACIÓN EPIDEMIOLÓGICA DE LA TOXOPLASMOSIS EN CEBADEROS DE PORCINO DE ARAGÓN.

Vico, J.P., Mainar-Jaime, R.C.*

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón. Ctra. Montañana, 930. 50059 Zaragoza, Spain. *E-Mail: rcmainar@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial causada por el protozoo *Toxoplasma gondii*. Los felinos son el huésped definitivo de este parásito, siendo a la vez la única especie capaz de excretar los oocistos esporulados en el medio ambiente (Dubey, 2004). Esta infección afecta a casi un tercio de la población mundial, siendo el consumo de carne de cerdo cruda o poco cocida una de las principales fuente de infección en humanos (De Oliveira Mendonça et al, 2004; Dubey, 2009). Los cerdos pueden infectarse con *T. gondii* a través de la ingesta de oocistos esporulados presentes en el ambiente, por la ingestión de quistes en tejidos de animales infectados, como roedores, aves y otros cerdos, o por vía congénita (Dubey y Beattie, 1988, Dubey y Weigel, 1995). La prevalencia de toxoplasmosis en el porcino es muy variable, encontrando grandes diferencias entre diferentes países (Dubey, 2009) o incluso entre regiones de un mismo país (García-Bocanegra et al, 2010a). En España los estudios de toxoplasmosis en el cerdo son escasos, hallándose sólo trabajos a nivel regional. El objetivo de este estudio era evaluar y caracterizar la seroprevalencia de *T. gondii* en Aragón e identificar posibles factores asociados a la infección en cerdos de cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población de estudio estuvo compuesta por cebaderos de porcino que enviaron al menos 30 muestras individuales de suero al Laboratorio Regional de Diagnóstico para el diagnóstico de otras infecciones a lo largo del año 2010. Las granjas se seleccionaron de forma aleatoria y proporcional al censo oficial de comarcas. Para la obtención de información de las explotaciones se utilizó un cuestionario diseñado para el desarrollo de un estudio epidemiológico sobre salmonelosis porcina (Vico et al 2011). Dicho cuestionario fue administrado a los ganaderos a través de sus correspondientes veterinarios quienes supervisaron las respuestas. Las muestras de suero fueron analizadas mediante un ELISA comercial (SafePath Laboratories, California, EE.UU.) para la detección de anticuerpos de *T. gondii*. El desarrollo e interpretación del ELISA se realizó siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Stata (StataCorp, Texas, EE.UU.). Se estimó la seroprevalencia individual y de rebaño para la región y para las tres provincias con sus correspondientes intervalos de confianza del 95%. Un rebaño se consideró infectado cuando al menos dos animales resultaron positivos al ELISA. Para el análisis de los factores de riesgo, se utilizó un modelo de regresión logística mediante el módulo glm (generalized linear models) de Stata. La variable dependiente era el número de animales seropositivos del total analizados para cada uno de los rebaños y como variables independientes se usaron aquellas que podían tener una relación biológica con la infección. Inicialmente se realizó un análisis univariable y sólo aquellas variables significativas ($P < 0.15$) en éste análisis fueron posteriormente incluidas en el modelo multivariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se muestrearon un total de 2.547 animales pertenecientes a 91 explotaciones (media de 28 animales por explotación). La seroprevalencia observada en Aragón fue del 22,8% (IC95%=21,1%-24,4%), similar a la descrita mediante la técnica de aglutinación modificada, en otras regiones de España como Valencia (27,3%), Extremadura (23,3%) y Cataluña (21,2%) (García-Bocanegra et al, 2010a), y a las observadas en otros países de la Unión Europea (Dubey, 2009). El 51,5% (IC95%=41,7%-61,3%) de los rebaños se consideró positivo, lo que sugeriría que *T. gondii* está ampliamente distribuido por Aragón (Tabla 1). El rango de seroprevalencia dentro de los rebaños positivos fue del 10% al 100%. Por provincias no se observaron diferencias significativas en la proporción de rebaños infectados, sin embargo si que se observaron diferencia en la seroprevalencia individual, con

Teruel presentando la mayor proporción de individuos seropositivos (Tabla 1). Del total de variables analizadas, sólo 24 resultaron significativas ($P < 0,15$) en el análisis univariable. La variable “presencia de gatos”, aunque no fue significativa inicialmente, se incluyó en el modelo multivariable dada su relación biológica con la infección. Los resultados finales se observan en la Tabla 2. La seroprevalencia fue significativamente menor en Huesca y menor también en los cerdos muestreados en otoño y primavera. Una menor seroprevalencia en estas épocas podría deberse a la presencia de un clima más favorable y una mayor abundancia de recursos alimenticios para los roedores en el exterior de las explotaciones. Los principales factores de riesgo observados fueron la presencia de vallado defectuoso, el compartir trabajadores con otras explotaciones porcinas, un menor porcentaje de rejilla en el suelo de los corrales y la presencia de gatos. En general estos factores reflejarían menores niveles de higiene y bioseguridad en las explotaciones y la presencia de la principal fuente de infección, es decir, los gatos, cuya presencia se ha relacionado con la toxoplasmosis porcina en este tipo de estudios transversales (Dubey et al, 1995, García-Bocanegra et al 2010b). También se observó una asociación positiva entre el número de animales en la explotación y la seroprevalencia.

Por el contrario como factores aparentemente relacionados con una menor seroprevalencia en la explotación se encontraron el disponer de botas de uso exclusivo para el cebadero, la ausencia o irregularidad de planes de control de roedores, la separación de corrales por barrotes en vez de muros y el suministro de agua procedente de pozos propios o canales/ríos. El primer factor se asociaría posiblemente con una mayor higiene y bioseguridad en las explotaciones. La ausencia o irregularidad de planes de control de roedores sólo podría asociarse con una disminución de la seroprevalencia si en realidad reflejara una escasa presencia de roedores en la explotación, puesto que éstos son un reservorio natural de esta infección (Aize et al, 2008). El efecto de las dos últimas variables sería más difícil de explicar. La presencia de barrotes no debería ni impedir ni facilitar la transmisión de la infección pues tanto los gatos como los roedores sortean sin dificultad estas barreras. El suministro de agua procedente de pozos o ríos podría quizás asociarse con una mayor frecuencia de higienización de la misma debido a su necesidad de almacenamiento, comparado con la procedente directamente del suministro público, pero nuestros estudios sobre otras infecciones (salmonelosis) no lo justificarían.

Concluyendo, la toxoplasmosis en el ganado porcino está ampliamente difundida en Aragón y medidas encaminadas a mejorar la higiene y bioseguridad de las explotaciones porcinas redundarán en una reducción de la seroprevalencia. Evitar la presencia de gatos, aunque puedan actuar como control de roedores, es una medida de control básica.

REFERENCIAS

- Dubey, J.P. y Beattie, C.P. Boca Raton, FL: CRC Press. 1988. 1-220.
- Dubey, J.P., Weigel, R.M., Siegel, A.M., Thulliez, P., Kitron, U.D., Mitchell, M.A., Manelli, A., et al. Parasitol. 1995;81:723-9.
- Dubey, J.P. Vet. Parasitol. 2004.126:57-72.
- De Oliveira Mendonça, A., Domingues, P.F., Da Silva, A., Bergamaschi Pezerico, S., Langoni, H. Parasitol. Latinoam. 2004;59:42-5.
- Kijlstra, A., Meerburg, B., Cornelissen, J., De Craeye, S., Vereijken, P., Jongert, E. Vet. Parasitol. 2008;156:183-190
- Dubey, J.P. Vet. Parasitol. 2009;164:89–103.
- García-Bocanegra, I., Simon-Grifé, M., Dubey, J.P., Casal, J., Martín, G.E., Cabezón, O., Perea, A., Almería, S. Parasitol. Internat. 2010a; 59:421-426.
- García-Bocanegra, I., Dubey, J.P., Simon-Grifé, M., Cabezón, O., Casal, J., Allepuz, A., Napp, S., Almería, S. Res in Vet Sci. 2010b;89:85-7.
- Vico, J.P., Rol, I., Garrido, V., San Román, B., Grilló, M.J., Mainar-Jaime, J.C. 2011 J. of Food Protect (en prensa).

Tabla 1. Seroprevalencia de toxoplasmosis por provincias en ganado porcino de Aragón.

Provincia	Total rebaños	Seroprevalencia de rebaños (%), IC95%	Total animales	Seroprevalencia individual (%), IC95%
Huesca	42	54,8 (40,1-69,5)	1.201	18,8 (16,8-21,2) ^a
Teruel	24	66,6 (48-85,2)	636	29,7 (26,5-33,5) ^b
Zaragoza	25	68 (49,9-86,1)	710	23,2 (19,9-26,1) ^c
Aragón	91	51,5 (41,7-61,3)	2.547	22,8 (21,1-24,4)

^{a,b,c} Diferentes superíndices indican diferencias significativas (test de Chi-cuadrado).

Tabla 2. Variables asociadas con la seroprevalencia de *T. gondii* en granjas de cerdos de cebo de Aragón.

Variable	Valor P	Odds Ratio	95% IC (Odds Ratio)	
Provincia				
Huesca		1		
Teruel	<0,01	1,97	1,47	2,62
Zaragoza	<0,01	2,66	1,95	3,64
Época				
Invierno		1		
Otoño	<0,01	0,43	0,31	0,61
Primavera	<0,01	0,49	0,37	0,65
Verano	0,93	1,01	0,76	1,34
Vallado presenta deficiencias				
No		1		
Sí	0,01	1,36	1,06	1,75
Número de plazas				
< 1500		1		
≥ 1500	<0,01	1,47	1,14	1,89
Separación de corrales				
Muros		1		
Barrotes	<0,01	0,51	0,36	0,73
Botas de uso exclusivo				
No		1		
Sí	<0,01	0,48	0,35	0,66
Comparte trabajadores				
No		1		
Sí	<0,01	3,16	2,38	4,18
Origen del agua				
Red pública		1		
Otros (pozos, ríos, etc.)	<0,01	0,43	0,32	0,58
Porcentaje de rejilla en cuadras				
≥ al 50%		1		
< al 50%	<0,01	1,70	1,32	2,19
Presencia de gatos				
No		1		
Sí	<0,01	1,52	1,17	1,96
Plan de control de roedores				
Sí, continuo		1		
Alguna vez/inexistente	<0,01	0,52	0,41	0,64

EPIDEMIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TOXOPLASMOSES IN FINISHING PIG FARMS FROM ARAGON

ABSTRACT: A cross sectional study showed that the individual seroprevalence to *Toxoplasma gondii* in finishing pigs in Aragón was 22.8% (CI95%=21.1%-24.4%) and the herd seroprevalence was 51.5% (IC95%=41.7%-61.3%). A generalized linear model showed that larger number of pigs in the farm, deficiencies on the outside fence, sharing workers between pig farms, lower percentage of slatted floor in the boxes and the presence of cats in the farm were positively associated with higher levels of seroprevalence. Lower seroprevalence was associated with bars as pen separation, water supply from wells/rivers and the absence of a continuous rodent control programme. Pig toxoplasmosis is widespread in Aragon and preventing the presence of cats and implementing overall hygiene and biosecurity measures are of utmost importance for its control.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, ELISA, swine, Aragón.

PREVALENCIA Y FACTORES ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A ANTIHELMÍNTICOS EN GANADERÍAS OVINAS DE ARAGÓN.

Calavia, R.¹, Ferrer, L.M.², Ramos, J.J.², Lacasta, D.², Uriarte, J.¹ y Calvete, C.¹
¹CITA de Aragón. Avda de Montañana 930. 50059-Zaragoza. Dpto Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza. *E-Mail: rcalavia@aragon.es

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales son responsables de elevadas pérdidas económicas en la ganadería de ovino y caprino. A pesar de la existencia de diferentes métodos de control de las infecciones, la administración de compuestos antiparasitarios constituye el método más extendido, lo que ha ocasionado la aparición de fenómenos de resistencia en las poblaciones de parásitos, comprometiendo la viabilidad futura de los sistemas productivos.

El fenómeno de resistencia se define como el aumento significativo del número de individuos de una población de parásitos, capaces de soportar niveles de fármaco que han probado ser letales para la mayoría de los individuos de la misma especie. Posee un carácter heredable e irreversible, siendo un proceso de selección impuesto por el uso de antihelmínticos e influenciado por factores ligados al propio parásito, al huésped y al manejo (Jabbar et al., 2006).

En ausencia de control el fenómeno de la resistencia crece exponencialmente, por lo que es indispensable su detección precoz y la identificación de los factores que predisponen su desarrollo. Hasta el momento, en España solo se han realizado dos estudios orientados a estimar la prevalencia de la resistencia en el Noroeste del país (Álvarez-Sánchez et al., 2006; Díez-Baños et al., 2008). Es por esto que en el presente trabajo hemos tratado de estimar la resistencia frente a Bencimidazoles (BZ) en el Noreste de la Península a escala regional y detectar las asociaciones entre niveles de resistencia y los factores ambientales y de manejo relacionados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Desde Marzo de 2007 hasta Junio de 2009 se muestrearon un total de 107 explotaciones de ovino distribuidas en 67 localidades de las tres provincias de Aragón. En cada una de ellas se tomaron muestras de heces de 30-40 animales, con las que se estimó el número de huevos de nematodos gastrointestinales por gramo de materia fecal (HPG) mediante el método McMaster y se identificó la abundancia relativa de los géneros presentes mediante coprocultivo. La resistencia frente a BZ se valoró mediante el Test de Eclosión de Huevos (EHA), determinando la proporción de huevos (Pdd) que eclosionan a dosis discriminante (0,1 µg/ml de Tiabendazol). Aunque esta dosis previene la eclosión del 99% de huevos sensibles expuestos al producto, siguiendo los criterios adoptados en otros estudios, se consideraron valores de Pdd $\geq 0,5$ como indicadores de resistencia.

Así mismo, en cada explotación se realizó una encuesta sobre su manejo, que incluía cuestiones relacionadas con (1) el censo; (2) el riesgo de importación de parásitos (se consideró positivo cuando la reposición se efectuó con animales procedentes de otros rebaños y no se practicó ningún protocolo de cuarentena); (3) uso de pastos privados; (4) la frecuencia anual de desparasitación; (5) la época de desparasitación; (6) la familia de antihelmínticos usada; y (7) el riesgo de subdosificación (se consideró positivo cuando la dosificación se realizaba en función del peso medio de los animales, y negativo cuando se realizaba en función de los animales más pesados). En el momento del muestreo, además, cada explotación fue referenciada geográficamente mediante un receptor GPS. Utilizando las coordenadas geográficas se extrajeron 10 capas numéricas relativas a diferentes usos del suelo y cuatro variables climáticas extraídas de las bases de datos CORINE y WORLDCLIM. Como estas 14 variables están altamente correlacionadas entre sí, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) reduciendo los datos originales a seis variables bioclimáticas artificiales (factores-PCA, F1 a F6), que explicaron el 82,9% de la varianza original.

Con el fin de identificar los posibles factores asociados a los niveles de resistencia frente a BZ, se realizó un análisis de regresión multivariante donde la raíz cuadrada de Pdd fue la variable dependiente. En el modelo inicial se introdujeron como variables predictoras las referentes al manejo recogidas en la encuesta (introducidas como indicadoras) y un grupo de variables medioambientales compuesto por las seis variables bioclimáticas y la época del año, dividida en trimestres, en que se realizó el muestreo. Para obtener el modelo final, se procedió a ajustar todos los modelos de regresión que incluyesen la totalidad de las combinaciones posibles de las variables predictoras, siendo seleccionado aquél que presentó el mayor valor del parámetro R^2 -ajustado.

La variación estacional de los porcentajes relativos de los diferentes géneros de nematodos se evaluó mediante MANOVA.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los géneros identificados y su prevalencia fueron *Teladorsagia* sp. (100%), *Chabertia* sp. (56%), *Haemonchus* sp. (14%) y *Trichostrongylus* sp. (14%). *Teladorsagia* sp. fue el género dominante, con una abundancia relativa superior al 85% en todos los periodos de muestreo, seguido de *Chabertia* sp. (< 10%) y *Haemonchus* sp. y *Trichostrongylus* sp., cuya abundancia relativa fue inferior al 5%.

De todas las explotaciones muestreadas, tan solo 12 presentaron valores de Pdd $\geq 0,5$, indicando una prevalencia de rebaños con resistencia del 11%. Esta prevalencia es semejante a la denunciada en otros países con un manejo similar de los rebaños (Várady et al. 2006) y ligeramente inferior a las estimadas en el Noroeste de España (18-29%) (Álvarez-Sánchez et al., 2006; Díez-Baños et al., 2008). No obstante, sólo en dos muestras se encontraron valores de Pdd inferiores a 0,01, lo que indica que en el 98% de las explotaciones existen cepas resistentes. Este hecho pone en evidencia que, aunque la resistencia a BZ no es, en la actualidad, un problema en Aragón, podría incrementarse a niveles más elevados en un futuro.

El modelo final de regresión explicó el 28,1% de la variación de la resistencia ($F = 2,89$; $P = 0,004$). Las variables de manejo que quedaron asociadas a estas variaciones fueron, de forma directa, la frecuencia de desparasitación, el uso de pastos privados y el riesgo de subdosificación, y de forma inversa el uso exclusivo de BZ. Los niveles de resistencia fluctuaron estacionalmente, siendo superiores en la época enero-marzo y su variación también estuvo relacionada con cinco de los factores-PCA (Tabla 1).

Las tres primeras variables han sido ampliamente reseñadas en la bibliografía como mecanismos importantes para el desarrollo de la resistencia. La frecuencia de desparasitación incrementa la presión de selección de cepas resistentes, el uso de pastos privados impide la dilución de genes de resistencia, mientras que la utilización de dosis subterapéuticas (subdosificación) favorece la supervivencia de parásitos resistentes heterocigotos. El hecho de haber encontrado una asociación inversa entre el uso exclusivo de BZ y los niveles de resistencia, podría deberse a la sustitución de los BZ por antihelmínticos de otras familias en aquellos rebaños en los que se hubiera detectado una disminución de su eficacia.

Respecto a la estacionalidad detectada, no parece deberse a diferencias entre los niveles de tolerancia propios de cada género, ya que no se encontró una variación significativa de la composición de géneros en las diferentes épocas de muestreo (Wilks =0,87; $F = 1$; $P = 0,332$). Ello sugiere que, además del componente genético, el diagnóstico de éste fenómeno se podría ver afectado por otros factores, como cambios en el sistema inmunitario del hospedador consecutivos a su estado fisiológico y nutricional e incluso el efecto directo de la dieta sobre la fisiología del parásito.

La interpretación del análisis de los factores-PCA evidenció que los niveles de resistencia tendieron a ser mayores en aquellos rebaños localizados en áreas de montaña y somontanos localizados sobre todo en el noroeste de Aragón. Es conocido que las condiciones bioclimáticas determinan la dinámica de las relaciones parásito-hospedador y la supervivencia de los estadios de vida libre en el medio ambiente. También se admite que

uno de los factores más importantes relacionados con el desarrollo de resistencia es la proporción de la población parasitaria en refugio en el momento de la administración del antihelmíntico, es decir, la parte de la población parasitaria que no está en contacto con el fármaco y que está constituida sobre todo por los estadios de vida libre. En consecuencia, los resultados del presente trabajo podrían estar indicando que el clima y sus interacciones con el manejo antiparasitario llevado a cabo en estas zonas podrían ser factores que contribuyen a un desarrollo más rápido de resistencia. No obstante, esta interpretación debería tomarse con precaución, dado que las asociaciones con las variables bioclimáticas podrían deberse simplemente a la distribución geográficamente agregada de los rebaños con mayores niveles de resistencia, no estando relacionadas, por lo tanto, con verdaderos factores biológicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Sánchez, M.A., Pérez-García, J., Cruz-Rojo, M.A., Rojo-Vázquez, F.A., 2006. Parasitol. Res. 99, 78-83.
- Díez-Baños, P., Pedreira, J., Sánchez-Andrade, R., Francisco, I., Suárez, L., Díaz, P., Panadero, R., Arias, M., Panceira, A., Paz-Silva, A., Morrondo, P. 2008. J. Parasitol. 94, 925-928.
- Jabbar, A., Iqbal, Z., Kerboeuf, D., Muhammad, G., Khan, M.N., Afaq, M., 2006. Life Sci. 79, 2413-2431.
- Várady, M., Cudeková, P., Corba, J., 2007. Vet. Parasitol. 149, 104-110.

Agradecimientos: El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA_MEC RTA2006-00183-C03-01. Rebeca Calavia recibe una beca de formación de investigadores de tipo predoctoral de INIA.

Tabla 1. Parámetros de la regresión lineal (ES) a partir de las variables de manejo y bioclimáticas retenidas en el modelo final

Variables de Manejo	Parámetro (ES)	Variables Bioclimáticas	Parámetro (ES)
Frecuencia Desparasitación	0,06 (0,04)	Enero-Marzo	-0,14 (0,06)
Uso Pastos Privados	0,11 (0,05)	F1	-0,06 (0,02)
Uso exclusivo BZ	-0,10 (0,05)	F3	-0,02 (0,02)
Subdosificación.	0,05 (0,05)	F4	-0,04 (0,03)
		F5	-0,04 (0,02)
		F6	-0,04 (0,02)

PREVALENCE AND ASSOCIATED FACTORS IN ANTHELMINTIC RESISTANCE IN SHEEP FLOCKS OF ARAGON

ABSTRACT: A survey to determine the level of flock resistance to benzimidazoles (BZ) was performed under field conditions in 107 commercial sheep farms from Aragon region (NE Spain). Resistance was measured using the in vitro egg hatch assay (EHA) in the simplified form of discriminant dose. Management and environmental variables were compiled from each flock and their relationships with resistance levels analyzed in a multivariate approach. Estimated prevalence of resistant flocks was 11% although presence of BZ resistant parasite strains was suspected in 98% of samples. Frequency of deworming, grazing in private pastures and subdosification were management variables positively related to resistance levels whereas using benzimidazoles only was negatively, probably because they were substituted by other anthelmintic groups in flocks where reduced BZ efficacy was suspected. Different uses of soil in addition to climatic conditions and seasonality were environmental variables associated with observed resistance levels.

Keywords: anthelmintic resistance; benzimidazoles; sheep.

RESPUESTA HUMORAL IgG1 E IgG2 FRENTE NEOSPOORA CANINUM EN GESTACIONES DE VACAS LECHERAS PURAS Y CRUZADAS

Almería, S.¹, Santolaria, P.², Martínez-Bello, D.³, Nogareda, C.⁴, Mezo, M.⁵, Gonzalez-Warleta, M.⁵, Castro-Hermida, JA.⁵, Yániz, JL.², López-Gatius, F.⁴

¹Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), UAB-IRTA, y Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona.

²Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos e Instituto de Ciencias Ambientales (IUCA), Universidad de Zaragoza, Huesca. ³UTE Bos-FEFRIGA, Bos-Guisamo-15640, Bergondo-A Coruña. ⁴Departamento de Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida. ⁵Centro de Investigación Agraria de Mabegondo (CIAM), La Coruña.

*E-mail: Sonia.Almeria@uab.cat

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito protozoo del tipo Apicomplexa de distribución mundial, considerado en la actualidad como una de las causas más importante de abortos y mortalidad neonatal en el ganado vacuno (Dubey et al., 2007). En el Noreste de España el riesgo de aborto en vacas seropositivas es de 12-19 veces mayor comparado con las vacas seronegativas en los mismos rebaños y el aborto se produce en el 30% al 44% de los animales seropositivos (López-Gatius et al., 2004a; López-Gatius et al., 2004b). El aborto puede tener lugar en vacas de cualquier edad, con la mayoría de los abortos produciéndose entre los 4-6 meses de gestación (Dubey et al., 2006).

Las causas del aborto no están totalmente aclaradas pero, entre otros factores, se encuentran el daño parasitario a nivel de la placenta y la respuesta inmune tanto de la madre como del feto (Dubey et al., 2006). Estudios previos han demostrado que la inseminación de vacas lecheras seropositivas con semen de vacuno de carne disminuye la tasa de aborto en dichas vacas (López-Gatius et al. 2005; Almería et al. 2009, Yániz et al. 2010), medida que además disminuye la prevalencia de infección en los rebaños. El presente estudio tuvo como objetivo analizar las posibles diferencias en las respuestas humorales a lo largo de la gestación en vacas puras y cruzadas frente *N. caninum* tanto en vacas que abortaron como en las que no, con la finalidad de encontrar una explicación a las diferencias encontradas en las tasas de aborto en estos animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en 4 rebaños (3 de leche y uno de carne). Los rebaños tenían casos confirmados de aborto asociado a *N. caninum*. En total se examinaron 98 vacas gestantes seropositivas a *N. caninum* antes del inicio del estudio, 14 vacas lecheras Frisonas puras (Grupo HF), 54 vacas lecheras inseminadas con Limusín (grupo HF-L) y 28 vacas de carne de la raza Rubia Gallega inseminadas con semen de la misma raza (grupo RG).

La gestación se diagnosticó mediante ecografía a los 40 días de gestación (dg) y por palpación rectal a los 90 dg, 120 dg, 150 dg, 180 dg y a los 210 dg. Se tomaron muestras de sangre en tubos con heparina inmediatamente antes de cada diagnóstico de gestación. Los anticuerpos totales y los isotipos se analizaron mediante el ELISA CIVTEST® anti-*Neospora* de la compañía Hipra mediante el cálculo del índice relativo de anticuerpos. Para el estudio de los isotipos se empleó conjugado de ovino anti-bovino marcado con peroxidasa de la empresa Serotec (Oxford, UK). Los valores IgG2/IgG1 se obtuvieron a partir de los respectivos índices relativos de IgG1 e IgG2 en cada animal.

Análisis estadístico: Los efectos del día de gestación y de la paridad en los títulos de anticuerpos frente *N. caninum* fueron analizados mediante análisis de varianza con modelos GLM de medidas repetidas del programa SPSS, tanto en vacas que abortaron como en las que no abortaron. En las vacas que abortaron, sólo se incluyeron en los análisis los tres últimos muestreos previos y/o al momento del aborto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 96 gestaciones examinadas, 12 animales abortaron (12,5% de los animales analizados). Ninguna de las vacas del grupo HF abortó, mientras que 6 (11,0%) de las 54 vacas inseminadas con Limusín (grupo HF-L) y 6 (21,4%) de las 28 inseminadas con Rubia Gallega (grupo RG) abortaron. En los 84 animales que no abortaron se observó un efecto significativo del día de gestación sobre el total de anticuerpos y de los isotipos IgG1 e IgG2 ($P < 0.0001$ para las tres variables), de acuerdo a lo observado en estudios previos (Almería et al., 2009). Los mayores niveles de los tres tipos de anticuerpos se observaron en las vacas RG a lo largo de toda la gestación, lo cual parece indicar que los animales de vacuno de carne puro presentan una respuesta humoral más marcada frente *N. caninum* comparados con las vacas de leche o cruzadas, lo cual puede ser indicativo de diferencias en la susceptibilidad a la parasitación entre las diversas razas.

También se observaron diferencias importantes en el patrón IgG2/IgG1, con el vacuno de carne mostrando predominantemente patrones IgG1 (ratios $< 1,0$) a lo largo de la gestación (Tabla 1), lo mismo que el vacuno lechero puro, mientras que los animales de gestaciones cruzadas mostraron predominantemente patrones IgG2 a lo largo de la gestación. Estos patrones pueden ser debidos a diferencias en la parasitemia que tiene lugar en los diferentes animales, ya que las fluctuaciones de anticuerpos a lo largo de la gestación varían según el momento en que se produce dicha parasitemia (Guy et al., 2001; Weston et al., 2005).

Las mayores diferencias se observaron en las vacas que abortaron, con las vacas del grupo RG mostrando niveles significativamente menores de IgG totales e IgG2 a lo largo de la gestación. No se observaron diferencias en los niveles de anticuerpos IgG1. Estos resultados indican un importante papel de los anticuerpos del isotipo IgG2 en la protección frente los abortos asociados a *N. caninum* en las vacas de carne seropositivas al parásito. Por otro lado, elevados niveles de IgG2 no fueron suficientes para proteger frente al aborto en las vacas cruzadas, en las que los niveles más elevados se dieron precisamente en los animales que abortaron. Por tanto, en las vacas cruzadas seropositivas a *N. caninum* son necesarios otros mecanismos inmunes, independiente de los niveles de IgG2, para la protección frente al aborto asociado a *N. caninum*.

En conclusión, estos resultados indican que la respuesta humoral frente *N. caninum*, e indirectamente la respuesta de tipo celular (Th2, asociada a los anticuerpos IgG1 y Th1, asociadas a los anticuerpos IgG2), son diferentes entre las vacas de carne, las vacas lecheras y entre las vacas lecheras cruzadas con vacuno de carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almería, S., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Nogareda, C., Bech-Sabat, G., Serrano, B., Santolaria, P., Yániz, J.L. 2009. Effect of different cross-breed pregnancies on the risk of abortion of Neospora-infected dairy cows. *Vet Parasitol.* 164: 323-329.
- Dubey, J.P., Buxton, D., Wouda, W. 2006. Pathogenesis of bovine neosporosis. *J. Comp. Path.* 134, 267-89
- Dubey, J.P., Schares, G., Ortega-Mora, L.M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 323-367.
- Guy, C.S., Williams, D.J.L., Kelly, D.F., McGarry, J.W., Guy, F., Bjorkman, C., Smith, R.F., Trees, A.J., 2001. *Vet Rec.* 149: 443-449.
- Lopez-Gatius, F., Lopez-Bejar, M., Murugavel, K., Pabon, M., Ferrer, D., Almería, S., 2004a. Neospora-associated abortion episode over a 1-year period in a dairy herd in north-east Spain. *J. Vet. Med. B.* 51: 348-352.
- Lopez-Gatius, F., Pabon, M., Almería, S., 2004b. *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology* 62: 606-613.
- López-Gatius, F., Santolaria, P., Yániz, J.L., Garbayo, J.M., Almería, S. 2005. Use of beef semen reduces the risk of abortion in Neospora-seropositive dairy cows. *J. Vet. Med. B* 52: 88-92.
- Yániz, J.L., López-Gatius, F., García-Ispierto, I., Bech-Sabat, G., Serrano, B., Nogareda, C., Sánchez-Nadal, J.A., Almería, S., Santolaria, P. 2010. Some factors affecting the abortion rate in dairy herds with high incidence of neospora-associated abortions are different in cows and heifers. *Reprod. Domestic Anim.* 45: 699-705.
- Weston JF, Williamson NB, Pomroy WE. *N Z Vet J.* 53: 142-148.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado gracias a los proyectos AGL2007-65521/GAN y AGL2010-21273/GAN.

Tabla 1. Media (\pm error estandar de la media) de los ratios IgG2/IgG1 a lo largo de la gestación en vacas abortadas y no abortadas por *N. caninum*

Grupos	Días						Patrón de IgG predominante
	40	90	120	150	180	210	
Vacas no abortadas							
HF	1,12	0,91	0,63	0,59	0,71	0,57	Ambos
N =14	\pm 0,3	\pm 0,4	\pm 0,1	\pm 0,1	\pm 0,2	\pm 0,2	
HxL	1,11	2,62	1,08	1,1	1,19	0,80	Ambos
N = 48	\pm 0,2	\pm 1,0	\pm 0,1	\pm 0,2	\pm 0,4	\pm 0,1	
RG	0,97	0,90	0,92	1,69	0,70	0,68	IgG2
N = 22	\pm 0,2	\pm 0,1	\pm 0,2	\pm 0,9	\pm 0,1	\pm 0,1	
Vacas abortadas	Toma 2	Toma 1	Aborto				
HxL	1,69	1,74	2,06				IgG2
N= 6	\pm 0,1	\pm 0,1	\pm 0,6				
RG	0,54	0,55	0,50				IgG1
N =6	\pm 0,1	\pm 0,1	\pm 0,1				

HUMORAL IGG1 AND IGG2 RESPONSES AGAINST NEOSPORA CANINUM INFECTION IN PURE AND CROSSBREED GESTATIONS OF BEEF AND DAIRY CATTLE

ABSTRACT: The possible differences of *N. caninum*-specific total antibodies, IgG1 antibodies and IgG2 antibodies were analyzed in pure and crossbreed pregnancies of beef and dairy cattle throughout pregnancy. The population examined comprised 96 pregnant parous cows seropositive for *N. caninum*. Antibodies were analyzed on Days 90, 120, 150, 180 and 210 of gestation or until abortion. Of the 96 pregnancies examined, 12 ended in abortion. None of the 14 Holstein-Friesian (HF) cows inseminated with HF semen aborted, whereas 6 of the 54 HF cows inseminated with Limousin semen (HF-L) cows (11.0%) and 6 of the 28 Rubia Gallega (RG) beef cows inseminated with RG semen (21.4%) aborted. In the 84 non-aborting cows, a significant positive effect of the day of gestation was observed for the three variables. Significantly higher values of *N. caninum*- IgG total antibodies, IgG1 antibodies and IgG2 antibodies were registered for RG cows throughout gestation. In aborting cows, significantly lower *N. caninum*- IgG antibodies and IgG2 antibody levels were observed for RG-RG cows. The present study showed that the humoral mechanisms against *N. caninum* infection and abortion, and indirectly the cellular immune mechanisms, are different in pure and crossbreed gestations of beef and dairy cattle.

Keywords : Neospora caninum, IgG1, IgG2, dairy cattle, crossbreed gestations.

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO TRANSVERSAL DE LA FASCIOSIS EN GANADO VACUNO DEL URUGUAY

Sanchís, J.¹, Miguélez, S.², Macchi, M.I.¹, Maldini, G.¹, Piñeiro, P.², Venzal, J.¹, Díez-Baños, P.², Sánchez-Andrade, R.², Paz-Silva, A.², Arias, M.^{2*}

¹Parasitología, Universidad de la República (Regional Norte), Salto (Uruguay).

²Epidemiología y Zoonosis, Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Universitario, s/n, 27002-Lugo (Spain). *E-mail: mariasol.arias@usc.es.

INTRODUCCIÓN

Uruguay es un país netamente agropecuario, con una población bovina de más de 11 millones de cabezas y casi 10 millones de ovinos que proveen aproximadamente más del 57% del total de las divisas anualmente disponibles en el país. A corto plazo se estima que este sector será el único con capacidad de crecimiento y de fortalecer la economía resultando clara la importancia de la salud animal para la economía del Uruguay.

La fasciolosis es en Uruguay una de las enfermedades más endémicas. Se trata de un proceso parasitario provocado por un helminto digénido (*Fasciola hepatica*) que se transmite por caracoles de agua dulce. Las formas adultas se encuentran en los conductos biliares de los hospedadores definitivos, sobre todo rumiantes y equinos (también las personas pueden resultar afectadas), y ocasionan importantes pérdidas económicas, como disminución de la ganancia de peso, producción de leche y lana, muertes, tratamientos con drogas fasciolicidas, etc. En este país, la fasciolosis sigue una distribución focalizada en áreas reducidas de los establecimientos agropecuarios, en donde la coincidencia huésped-parásito se produce por el movimiento del ganado hacia potreros o pastos infectados en las que el pastoreo mixto ovino/bovino permite mantener unas altas tasas de infestación. A pesar de los grandes problemas asociados a esta enfermedad, existe escasa información a nivel de Organismos Oficiales. En algunos estudios epidemiológicos que datan del año 1973 se encontraron índices de prevalencia del 60% en ovinos y 50% en bovinos. Tanto los cambios climáticos sucedidos en los últimos años como la aparición de resistencia a las drogas fasciolicidas de aplicación más frecuente, hacen pensar en un aumento importante de estos índices.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de septiembre a diciembre de 2010 se recogieron muestras de heces y sangre de 402 bóvidos (vacas y toros de distintas razas y edades) de 17 explotaciones en el Departamento de Salto (Uruguay).

La prevalencia de fasciolosis se estimó mediante coprología y ELISA. Las muestras fecales se analizaron con la técnica de sedimentación, en tanto que las de sangre se procesaron con un ELISA para establecer la respuesta inmunitaria humoral IgG frente a los antígenos de excreción/secreción de fasciolas adultas (Sánchez-Andrade et al., 2010). El protocolo consistió en la sensibilización de placas con antígeno a 5 µg/ml, sueros a 1/20 e inmunoconjugado a 1/1000.

Los resultados obtenidos se analizaron en función de factores intrínsecos (raza, sexo, edad) y extrínsecos (aptitud) de los animales, empleándose las pruebas de χ^2 para el análisis de cada grupo, y el CHAID (Chi-squared Automatic Interaction Detector) para el conjunto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Coprología:

El porcentaje de bóvidos que eliminaban huevos de *F. hepatica* en las heces resultó del 15%, que osciló entre el 12% en los de leche y el 19% en los de carne, aunque estas diferencias no fueron significativas ($\chi^2= 1'352$, $P= 0'509$).

Los animales de raza Angus resultaron menos parasitados (7%) y los Hereford presentaron los porcentajes más elevados (19%). Ninguno de los machos fue positivo a la coprología, mientras que el 16% de las hembras sí lo fueron ($\chi^2= 5'384$, $P= 0'020$). En relación con la

edad, se observó que la prevalencia de eliminación de huevos oscilaba entre el 2% (2 dientes, 2D) y el 19% (dentición completa o boca llena, BL), en tanto que ningún animal con dentición de leche (DL) fue positivo ($X^2= 13'085$, $P= 0'011$).

En la Figura 1 se refleja el análisis simultáneo de la influencia de todos los factores considerados sobre la prevalencia de eliminación de huevos de *F. hepatica*. La edad de los animales resultó el factor más importante, dividiendo la población en 2 nodos, bovinos menores (DL y 2D) y mayores (BL, 6D y 4D) de 2 años.

ELISA:

La seroprevalencia de fasciolosis alcanzó un valor del 67%, que fluctuó entre el 43,5% en los bóvidos de leche y el 73,5% en los de carne + leche/carne ($X^2= 28'888$, $P= 0'001$). Aunque las hembras mostraron unos porcentajes más elevados que los machos (82% y 65%, respectivamente), estas diferencias no resultaron significativas ($X^2= 3'244$, $P= 0'072$). Se comprobó que la seroprevalencia de fasciolosis disminuía con la edad de los animales (contrariamente a lo observado en el análisis coprológico), de forma que las tasas más altas se obtuvieron en los animales con dentición de leche (86%) y las más bajas en los adultos (66%) ($X^2= 10'374$, $P= 0'035$).

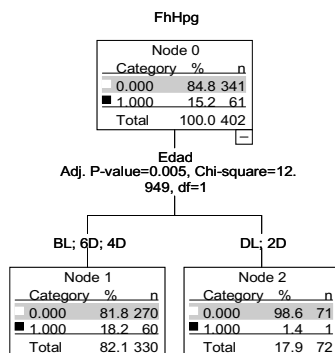
En la Figura 2 se recoge el análisis conjunto de la seroprevalencia de anticuerpos en función de los factores intrínsecos y extrínsecos. La raza fue el factor más influyente, dividiendo la población en 4 nodos que, ordenados de menor a mayor seroprevalencia, fueron Frisona (43%), Hereford y sus cruces (59%), Normanda + Cruces (77%) y Angus (88%). En las Frisonas se estableció una segunda división según la edad, con los valores más elevados en los animales adultos (BL) y con 4 dientes (4D), y los más bajos en el resto.

La presencia de huevos de *F. hepatica* en las heces de animales revela la existencia de formas adultas en los conductos biliares, mientras que la detección de anticuerpos (IgG) frente a los antígenos del trematodo señala la sensibilización (contacto previo) de los animales con el parásito. El manejo del ganado vacuno en el Uruguay es similar para todas las razas consideradas, y los animales se mantienen en pastoreo prácticamente todo el día. Durante el verano, ante la escasez de los pastos, se aprovechan praderas que suelen presentar áreas encharcadas que favorecen la infección por el trematodo. De los resultados obtenidos se concluye que la posibilidad de infección por *F. hepatica* es elevada en el ganado vacuno del Departamento de Salto (Uruguay), como lo demuestra el hallazgo de que el 86% de los bóvidos con dientes de leche (1'5 años) tienen valores de IgG considerados positivos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Sánchez-Andrade, R., Paz, A., Suárez, J.L., Panadero, R., Díez, P., Morrondo, P. 2000. Vet. Parasitol. 93:39-46.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Control de Semovientes. Declaración Jurada ante DICOSE 2008.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Anuario Estadístico Agropecuario 2008.

Agradecimientos : Consellería de Innovación (10MDS261023PR, Xunta Galicia, España).



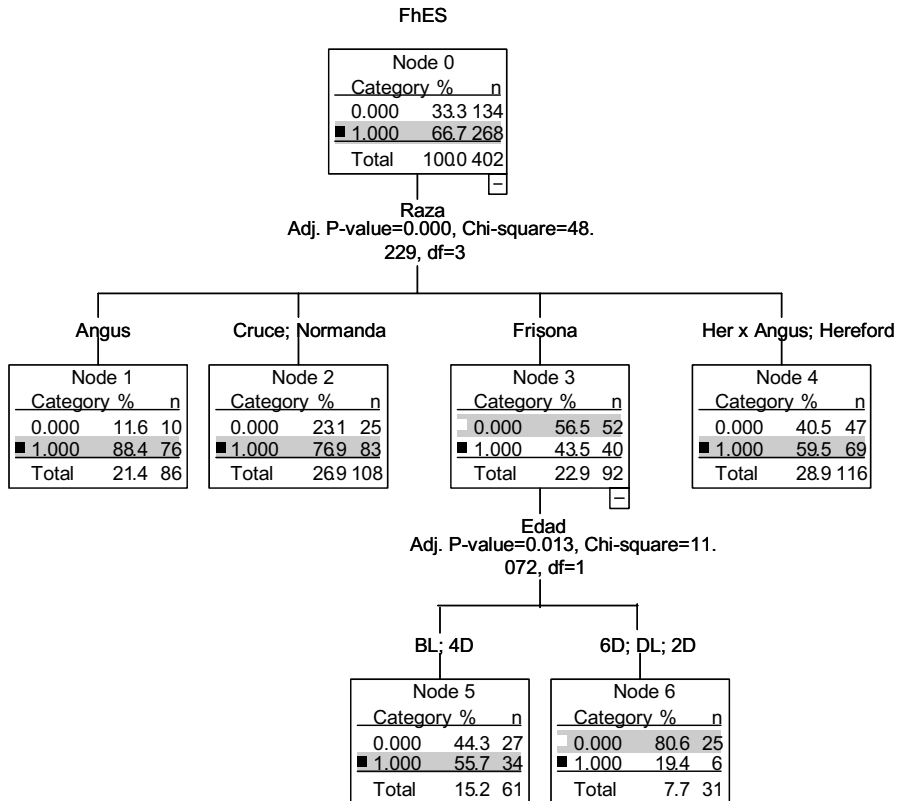


Figura 1 . Análisis simultáneo de todos los factores que influyen en la eliminación de huevos de F. hepática en ganado vacuno de Salto (Uruguay).

Figura 2.- Análisis simultáneo de todos los factores que influyen en el desarrollo de anticuerpos IgG frente a antígenos de excreción/secreción de F. hepática en ganado vacuno de Salto (Uruguay).

A TRANSVERSAL EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF FASCIOLISIS IN CATTLE FROM URUGUAY

ABSTRACT: A transversal epidemiological study to gain more knowledge about the infection by the trematoda *Fasciola hepatica* in cattle from Salto (Uruguay) was carried out. Fecal and blood samples were collected from 17 farms and analyzed by means of the copromicroscopical sedimentation technique and an ELISA with *F. hepatica* excretory/secretory antigens. Data were analyzed regarding the age, breed, gender and aptitude of the animals.

Results showed a higher egg-output in the Hereford adult cows, while the highest seroprevalence in Angus cattle and the lowest in the Friesians were recorded.

Keywords: cattle, fasciolosis, Uruguay, ELISA

FACTORES DE RIESGO DE PARANFISTOMOSIS EN BÓVIDOS DEL URUGUAY

Sanchís, J.¹, Miguélez, S.², Macchi, M.I.¹, Maldini, G.¹, Piñeiro, P.², Rodríguez, I.², Venzal, J.¹, Sánchez-Andrade, R.², Suárez, J.L.², Paz-Silva, A.², Arias, M.²

¹Parasitología, Universidad de la República (Regional Norte), Salto (Uruguay).

²Epidemiología y Zoonosis, Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultad de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Universitario, s/n, 27002-Lugo (Spain). *E-mail: mariasol.arias@usc.es

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades parasitarias más frecuentes en el ganado vacuno del Uruguay, destaca la fasciolosis, trematodosis provocada por helmintos *Fasciola hepatica* que se desarrolla en especial en zonas en las que existen temperaturas moderadas a lo largo del año, junto con humedad abundante, condiciones requeridas para la supervivencia de caracoles del género *Lymanea* que actúan como hospedadores intermediarios del parásito. Algunos estudios han demostrado que estas condiciones ambientales favorecen igualmente el desarrollo de trematodos *Paramphistomidae*, porque los limneidos también pueden servirles como hospedadores intermediarios (Rondelaud et al., 1999).

La información disponible de la paranfistomosis en el Uruguay es escasa. En algunos países europeos se ha comprobado en los últimos años un descenso en la prevalencia de fasciolosis, y un incremento en la de paranfistomosis (Rondelaud et al., 2000; Arias et al., 2011). Esto podría deberse al empleo de fármacos fasciolicidas, que disminuyen la eliminación de huevos de *F. hepatica* y con ello las posibilidades de infección de los limneidos, aumentando de este modo el nicho ecológico de los paranfistómidos.

En este trabajo se analizan los posibles factores de riesgo que están asociados a la aparición de paranfistomosis en ganado vacuno de Salto (Uruguay). El diagnóstico de la trematodosis se realizó mediante coprología y ELISA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los meses de septiembre a diciembre de 2010 se recogieron muestras de heces y sangre de 402 bóvidos de 17 explotaciones en el Departamento de Salto (Uruguay).

La prevalencia de paranfistomosis se estimó mediante coprología y ELISA. Las muestras fecales se analizaron con la técnica de sedimentación, en tanto que las de sangre se procesaron con un ELISA para establecer la respuesta inmunitaria humoral IgG frente a los antígenos de excreción/secreción de adultos de *Calicophoron daubneyi* (Paz-Silva et al., 2010). El protocolo consistió en la sensibilización de placas con antígeno a 2 µg/ml, sueros a 1/40 e inmunoconjugado 1/1500.

En cada grupo se calculó el porcentaje de animales positivos con cada una de las técnicas (presencia de huevos en heces y ELISA) y estos resultados se analizaron en función de factores intrínsecos (raza, sexo, edad) y extrínsecos (aptitud) de los animales, empleándose las pruebas de X^2 para el análisis de cada grupo. En el caso de que las diferencias resultasen significativas ($P < 0.05$), se calcularon los valores de *odds ratio* (OR) y fracción etiológica (FE) para establecer el grado de relación entre los factores y el riesgo de la aparición de la trematodosis. Se consideró que existía relación si $OR > 1$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se resume la prevalencia de paranfistomosis bovina en Salto (Uruguay).

Raza: Los bóvidos de raza Hereford y sus cruces con Angus alcanzaron la prevalencia más elevada de eliminación de huevos, mientras que los máximos porcentajes de animales con anticuerpos se encontraron en las vacas Frisona y Hereford x Angus.

Edad: Los bovinos de mayor edad (dentición completa o boca llena, BL) mostraron una mayor prevalencia por coprología, en tanto que con el inmunoensayo se concluyó que los terneros eran los que más desarrollaban anticuerpos frente al trematodo.

Sexo: Sólo se observaron casos positivos a sedimentación y ELISA entre las hembras, resultando los machos negativos a ambas pruebas.

Aptitud: Los bovinos de aptitud cárnica alcanzaron las cifras más elevadas de prevalencia por coprología, mientras que en el ganado vacuno de leche se observaron las mayores seroprevalencias de anticuerpos.

En la Tabla 2 se recoge el análisis de los factores de riesgo de paranfistomosis en función de la estimación de los valores de *odds ratio* (OR) y fracción etiológica (FE).

Raza: Las vacas cruce de Hereford y Angus presentan un mayor riesgo de infección por *Calicophoron*, y los trematodos se desarrollan hasta las formas adultas, como se deduce de los resultados de coprología. En las frisonas se observa una elevada exposición al parásito, que no llega a completar su ciclo.

Edad: En los bóvidos adultos se denota un riesgo elevado de que tras la infección por el trematodo, se encuentren parásitos adultos en el rumen. En los animales más jóvenes se aprecia una exposición notable a las formas infectivas de *Calicophoron*.

Aptitud: Las frisonas detentan la mayor probabilidad de desarrollar anticuerpos frente al trematodo gástrico.

El análisis de los datos obtenidos en el presente estudio muestra que el ganado vacuno de raza Hereford y sus cruces, con más de 3 años (dentición completa), constituye el grupo de mayor riesgo de infección por trematodos *Paramphistomidae*, que en estos animales completarían su desarrollo hasta alcanzar la madurez sexual y eliminar huevos, que saldrían al exterior con las heces. Si se tienen en cuenta los resultados del ELISA, cabe incidir en la elevada exposición de los bovinos Hereford a las formas infectivas (metacercarias) de estos trematodos. También es importante considerar el elevado riesgo de infección que presentan las Frisonas. Teniendo en cuenta las dificultades para la desparasitación de animales en lactación, estos resultados aconsejan la adopción de medidas en el medio que reduzcan la presencia de los limneidos y con ello la posibilidad de ingestión de las metacercarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Paz-Silva, M., Arias, I., Francisco, F.J., Cortiñas, R., Francisco, E., Mochales, J.L., Suárez, P., Díez-Baños, P., Morrondo, R., Sánchez-Andrade. 2010. En: *Veterinary Parasitology*. Ed: George La Mann. Novapublishers. USA. 302-2010.
- Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G., Cabaret, J. 1999. *Vet. Res.* 30:113-118.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Dirección de Control de Semovientes. Declaración Jurada ante DICOSE 2008.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca. Anuario Estadístico Agropecuario 2008.

Agradecimientos : Consellería de Innovación (10MDS261023PR, Xunta Galicia, España).

Tabla 1. Prevalencia (%) de paranfistomosis en ganado vacuno del Departamento de Salto (Uruguay) mediante coprología e inmunoensayo (ELISA).

Raza	N	Coprología	Análisis	ELISA	Análisis
Angus	86	3'5		19	
Cruce	61	7		25	
Frisona	92	4	$X^2= 11'990$ $P= 0'035$	46	$X^2= 32'627$ $P= 0'001$
Her x Angus	16	19		37'5	
Hereford	100	12		29	
Sexo					
Hembras	374	7	$X^2= 2'167$ $P= 0'141$	29	$X^2= 11'338$ $P= 0'001$
Machos	28	0		0	
Normanda	47	2		4	

Tabla 1 (continuación). Prevalencia (%) de parafistomosis en ganado vacuno del Departamento de Salto (Uruguay) mediante coprología e inmunoensayo (ELISA).

Aptitud	N	Coprología	Análisis	ELISA	Análisis
Leche	92	4		46	
Carne	263	8	$\chi^2= 3'544$ $P= 0'170$	25	$\chi^2= 28'790$ $P= 0'001$
Leche/Carne	47	2		4	
Edad					
DL	28	0		43	
2D	44	4'5		14	
4D	85	3'5	$\chi^2= 9'915$ $P= 0'042$	15	$\chi^2= 17'801$ $P= 0'001$
6D	46	2		26	
BL	199	11		34	

Tabla 2. Análisis del riesgo de parafistomosis en ganado vacuno del Departamento de Salto (Uruguay).

		Coprología	ELISA	
Raza	Hereford	OR= 2'6 FE= 60%	Frisona	OR= 3 FE= 70%
	Her x Angus	OR= 3'5 FE= 70%	Her x Angus	OR= 1'6 FE= 40%
Edad	BL	OR= 3'9 FE= 70%	DL	OR= 2'1 FE= 50%
			BL	OR= 1'9 FE= 50%
Aptitud			Leche	OR= 3 FE= 70%

RISK FACTORS INVOLVED IN THE BOVINE PARAMPHISTOMOSIS IN URUGUAY

ABSTRACT: Herein the analysis of some intrinsic (breed, age, gender) and extrinsic (aptitude) factors related to the development of infections by *Paramphistomidae* trematoda in cattle from Uruguay was carried out. The infection was detected by using both copromicroscopical and immunoenzymatic probes. It was demonstrated the elevated risk of adult Hereford cattle to become infected by this trematode. Friesians did also achieve a very high risk for developing IgG antibodies against the excretory/secretory antigens collected from adult flukes, which indicates these cattle are also exposed to an elevated risk for the ingestion of metacercariae (the infective stages of the trematoda). These results point the need for the application of procedures on the environment to reduce the habitats where the intermediate hosts (aquatic snails) can survive and continue with their life-cycle.

Keywords: paramphistomum, risk factors, bovine, Uruguay

LA APLICACIÓN POUR ON DE IVERMECTINA FACILITA EL CONTROL DE PARÁSITOS GASTROINTESTINALES EN CABALLOS SALVAJES

Miguélez, S., Arias, M., Francisco, I., Cazapal-Monteiro, C., Cortiñas, F.J., Sánchez, J.A., Mosteiro, D., Suárez, J., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A.*
Epidemiología y Zoonosis, Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultade de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Universitario, s/n, 27002-Lugo (Spain). *E-mail: adolfo.paz@usc.es.

INTRODUCCIÓN

En los équidos mantenidos en pastoreo o silvopastoreo existe un riesgo elevado de ingestión de pasto contaminado por diferentes parásitos (cestodos, trematodos, nematodos). Las prácticas más frecuentes para el control de estos parásitos se basan en la administración de diferentes fármacos, lo que resulta muy difícil en animales salvajes debido a la imposibilidad de lograr una sujeción adecuada que permita la aplicación de tratamientos por vía oral, subcutánea o intramuscular (Martin-Downing et al., 2001). En diferentes especies animales se ha comprobado que el vertido pour on de lactonas macrocíclicas es útil en estas situaciones, y permiten reducir el daño tanto para el animal como para el cuidador (Francisco et al., 2009). La ivermectina (IVM) en preparación oral (pasta o líquido) se utiliza para la desparasitación de caballos. De este modo, se han conseguido elevados porcentajes de eficacia (95-100%) frente a las formas adultas y a la mayoría de larvas 4 (L4) de ciatostómidos, grandes estróngilos, ascáridos y oxiúridos. En un estudio anterior se demostró la eficacia de la administración tópica de ivermectina para la desparasitación de caballos en silvopastoreo (Francisco et al., 2009). En el presente trabajo se pretende profundizar en el conocimiento del efecto beneficioso de este tratamiento en la salud de los équidos, mediante el análisis de algunos parámetros enzimáticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se emplearon potros Pura Raza Gallega (PRG) de 7 meses y 100-200 kg de peso, que se dividieron en 3 grupos de 12 animales cada uno: F-Eq0.2 (0.2 mg/kg pv IVM 1.87%, Eqvalan®, Merial, Spain, vía oral), F-Nor1 (1 mg/kg pv IVM 0.5% w/v, Noromectin®, Norbrook Laboratories Ltd, UK, pour on), y F-Testigo (potros sin tratamiento). Estos animales se mantienen en extensivo durante todo el año, alimentándose de pastos naturales y matorrales. El peso de los potros se calculó mediante una cinta métrica y la desparasitación se llevó a cabo al 4º día del estudio.

La toma de muestras de sangre y heces se realizó mediante la introducción de los potros en una manga; de este modo se recogieron 6 muestras, 4 días antes del tratamiento, y en los días 0, 4, 8, 12 y 16 después del mismo. En todos los casos, las heces se tomaron directamente del recto, y el recuento de huevos por gramo de heces se hizo mediante la técnica de McMaster modificada, basada en el análisis de 5 g. Las muestras de sangre se obtuvieron mediante punción de la vena yugular y los sueros se analizaron con un preparado comercial (IDEXX, Barcelona, España) en un autoanalizador bioquímico (VetTest® Chemistry Analyzer, IDEXX).

La eficacia antiparasitaria se determinó mediante el cálculo de la reducción de los recuentos de huevos en heces (FECR, fecal egg count reduction): $FECR (\%) = [1 - (FEC_{tratado} / FEC_{testigos})] \times 100$. Teniendo en cuenta que la eliminación de huevos en heces no sigue una distribución normal, los resultados se expresaron como la mediana y el rango, y se analizaron con las pruebas no paramétricas Kruskal-Wallis y "U" de Mann-Whitney U ($\alpha = 0.05$), considerándose significación cuando $P < 0.05$. Los datos obtenidos de la actividad enzimática y bioquímica se analizaron con un ANOVA. La posible correlación entre la eliminación de huevos y los parámetros hemáticos se estableció con la prueba de Pearson.

Todos los potros tratados fueron examinados para comprobar la aparición de cambios en la piel o el pelo después de la administración tópica de IVM. Se prestó especial atención a la presencia de despigmentación, caída de pelo, puntos blancos, úlceras, erosiones o algún otro tipo de lesión cutánea. La facilidad de la aplicación de la IVM se calculó con la medición del tiempo requerido para la desparasitación de cada potro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividad antiparasitaria:

No se obtuvieron diferencias significativas en la eliminación de huevos de ascáridos o ciatostómidos antes de la desparasitación de los potros. La IVM suprimió la eliminación de huevos de *Parascaris equorum* desde el 4º día post-tratamiento (dpt) en los 2 grupos tratados, de modo que los valores de FECR resultaron del 100%. Asimismo, a partir de los 4 y 8 dpt no se observaron huevos de strongílidos en el F-Eq0.2 y en el F-Nor1 respectivamente, por lo que el FECR alcanzó un valor del 100%.

Perfiles bioquímico y enzimático:

Al analizar diferentes parámetros séricos, durante todo el estudio y en todos los grupos se obtuvieron valores de creatin-kinasa (CK) por encima de lo normal. En los 2 grupos de potros tratados con IVM (oral o tópica) se observó cierta reducción en los valores de nitrógeno ureico en sangre (BUN), creatinina (CREA), proteínas totales (TP), albúmina (ALB), globulinas (GLOB) y, en mayor medida, LDH. En los potros testigo, que permanecieron sin tratar, los valores de estos parámetros se mantuvieron, en general, algo más elevados, aunque sólo se obtuvieron cifras fuera del rango normal para LDH.

Se observó una correlación significativa y de signo positivo entre el número de huevos de parásito en heces y LDH en sangre, tanto en los animales tratados ($\rho=0.806$, $P=0.001$ para el F-Eq0.2, y $\rho=0.836$, $P=0.001$ para el F-Nor1) como en los testigos ($\rho=0.453$, $P=0.001$). Es conocido que la penetración-reemergencia de los estadios larvarios provoca lesiones en la mucosa, que se complican cuando los parásitos adultos se alimentan, lo que podría explicar los valores elevados de LDH en los potros testigos durante todo el ensayo. Otros autores han relacionado el incremento de las concentraciones séricas de alcalinofosfatasa (AP) y LDH con la alteración de la mucosa intestinal (Reeder et al., 2009).

Los ascáridos adultos lesionan la mucosa del intestino delgado y compiten por nutrientes. Aunque en el presente trabajo se ha demostrado la asociación entre el recuento de huevos de ascáridos y los valores de aspartato aminotransferasa (AST) y CK ($\rho=0.300$, $P=0.028$ y $\rho=0.346$, $P=0.009$, respectivamente), no se ha encontrado explicación a la asociación entre la presencia de ascáridos y los aumentos de CK, puesto que esta enzima está asociada al daño muscular.

Efectos adversos y facilidad de aplicación:

No se apreciaron reacciones adversas en el pelo/piel, alopecia o despigmentación de los caballos tratados con IVM. Tampoco se observaron úlceras o lesión cutánea. Para la desparasitación de los potros fue necesario un tiempo medio de 45 ± 10 segundos (por potro) mediante la administración tópica, y $5 \text{ minutos} \pm 30$ segundos para la oral.

Los resultados obtenidos indican que la medición de los niveles séricos de actividad LDH podría constituir un indicador de alteración por ciatostómidos en el intestino. Con la aplicación tópica de una dosis de IVM (1 mg / kg pv) se logra una elevada eficacia frente a los parásitos intestinales que afectan a los équidos en pastoreo. De la facilidad y seguridad de su aplicación se concluye que esta formulación resulta extraordinariamente eficaz para la desparasitación de caballos en régimen extensivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Martin-Downum, K., Yazwinski, T., Tucker, C., Fincher, M., Ralph, J. & Hamilton, J. *Vet. Parasitol* 2001. 101:75-9.
- Francisco, I., Sánchez, J.A., Cortiñas, F.J., Francisco, R., Mochales, E., Arias, M., et al. *Equine Vet. J.* 2009. 41:713-5.
- Monahan, C.M., Klei, T.R. Ed: *Vercruyse, J & Rew R.S. New York, CABI.* 2002.
- Reeder, D., Miller, S., Wilfong, D.A. & Zimmel, D. *AAEVT's Equine Manual for Veterinary Technicians.* Iowa. John Wiley & Sons. 2009.

Agradecimientos: A las asociaciones equinas Pura Raza Galega PURAGA, Cabalo de Pura Raza Galega, "Granxa do Souto" y Grupoportichol. Este trabajo ha sido parcialmente financiado con los Proyectos de Investigación 07MDS021261PR y 10MDS261023PR (Xunta de Galicia, España).

Tabla 1. Valores séricos (Media \pm desviación estándar) de algunos parámetros bioquímicos analizados en potros parasitados de forma natural (valores de referencia entre paréntesis).

Días dpt	Grupo	BUN (10-25) mg/dL	CREA (0.8-2.2) mg/dL	TP (5.6-7.9) g/dL	ALB (1.9-3.2) g/dL	GLOB (2.4-4.8) g/dL	γ -GT (0-87) U/L	CK (10-350) U/L	LDH (250-2070) U/L
0	Control	24.00 <u>+1.15</u>	1.55 <u>+0.06</u>	8.40 <u>+0.00</u>	3.55 <u>+0.17</u>	4.85 <u>+0.17</u>	48.00 <u>+5.77</u>	563.00 <u>+214.77</u>	2180.50 <u>+71.01</u>
	Eq0.2	22.25 <u>+5.31</u>	1.48 <u>+0.16</u>	7.53 <u>+0.93</u>	3.30 <u>+0.29</u>	4.75 <u>+0.92</u>	45.75 <u>+17.39</u>	539.00 <u>+123.27</u>	2199.00 <u>+188.49</u>
	Nor1	23.00 <u>+2.00</u>	1.39 <u>+0.20</u>	7.83 <u>+0.23</u>	3.29 <u>+0.10</u>	4.68 <u>+0.19</u>	41.25 <u>+6.56</u>	635.25 <u>+210.59</u>	2148.88 <u>+297.89</u>
4	Control	22.50 <u>+1.73</u>	1.40 <u>+0.12</u>	7.65 <u>+0.06</u>	3.33 <u>+0.15</u>	4.75 <u>+0.17</u>	40.00 <u>+3.46</u>	504.50 <u>+222.28</u>	2194.00 <u>+54.28</u>
	Eq0.2	19.50 <u>+5.37</u>	1.35 <u>+0.19</u>	7.90 <u>+1.52</u>	3.05 <u>+0.12</u>	4.35 <u>+1.11</u>	40.00 <u>+18.72</u>	360.75 <u>+124.49</u>	1794.25 <u>+77.58</u>
	Nor1	20.38 <u>+2.83</u>	1.33 <u>+0.07</u>	7.43 <u>+0.23</u>	2.85 <u>+0.18</u>	4.58 <u>0.22</u>	35.00 <u>6.41</u>	480.75 <u>117.09</u>	1768.25 <u>268.74</u>
8	Control	20.75 <u>+2.50</u>	1.28 <u>+0.10</u>	7.55 <u>+0.06</u>	3.13 <u>+0.15</u>	4.60 <u>+0.00</u>	44.50 <u>+6.35</u>	482.50 <u>+239.60</u>	2084.67 <u>+214.57</u>
	Eq0.2	17.00 <u>+4.11</u>	1.23 <u>+0.18</u>	6.88 <u>+0.89</u>	2.88 <u>+0.21</u>	4.00 <u>+0.76</u>	46.50 <u>+17.01</u>	365.00 <u>+48.02</u>	1812.75 <u>+109.35</u>
	Nor1	17.38 <u>+3.81</u>	1.08 <u>+0.22</u>	7.50 <u>+0.20</u>	2.95 <u>+0.40</u>	4.55 <u>+0.22</u>	43.00 <u>+9.83</u>	398.75 <u>+152.20</u>	1806.75 <u>+483.44</u>
12	Control	22.50 <u>+1.00</u>	1.35 <u>+0.06</u>	7.25 <u>+0.06</u>	3.20 <u>+0.42</u>	4.30 <u>+0.12</u>	40.00 <u>+10.39</u>	370.50 <u>+35.22</u>	2170.00 <u>+131.64</u>
	Eq0.2	17.50 <u>+4.57</u>	1.43 <u>+0.16</u>	7.05 <u>+0.82</u>	2.98 <u>+0.21</u>	4.10 <u>+0.68</u>	38.75 <u>+16.39</u>	357.00 <u>+96.79</u>	1715.00 <u>+266.71</u>
	F-Nor1	19.25 <u>+1.49</u>	1.20 <u>+0.20</u>	7.30 <u>+0.20</u>	2.83 <u>+0.25</u>	4.50 <u>+0.11</u>	35.25 <u>+9.87</u>	436.00 <u>+174.57</u>	1616.75 <u>+502.81</u>
16	Control	20.00 <u>+2.31</u>	1.35 <u>+0.06</u>	7.25 <u>+0.06</u>	3.30 <u>+0.34</u>	4.30 <u>+0.12</u>	40.00 <u>+10.39</u>	343.75 <u>+19.53</u>	2092.25 <u>+194.00</u>
	Eq0.2	17.50 <u>+4.57</u>	1.43 <u>+0.16</u>	7.05 <u>+0.82</u>	2.95 <u>+0.21</u>	4.10 <u>+0.68</u>	38.75 <u>+16.39</u>	332.00 <u>+96.79</u>	1715.00 <u>+266.71</u>
	Nor1	18.13 <u>+1.46</u>	1.20 <u>+0.20</u>	7.30 <u>+0.20</u>	2.83 <u>+0.25</u>	4.50 <u>+0.11</u>	35.25 <u>+9.87</u>	356.05 <u>+174.57</u>	1616.75 <u>+502.81</u>

THE POUR ADMINISTRATION OF IVERMECTIN ENHANCES THE DEWORMING IN INDIGENOUS HORSES

ABSTRACT: The efficacy of topical ivermectin (IVM) on foals naturally infected by parasitic nematodes was evaluated. Two dosages of IVM were applied, one pour-on (F-Nor1; 1 mg kg bw⁻¹) and another orally (F-Eq0.2; 0.2 mg kg bw⁻¹). The efficacy was measured by estimating the reduction of the fecal egg counts (FERC). Several biochemical and enzymatic serum parameters were measured in the groups F-Nor1 and F-Eq0.2. The oral ivermectin suppressed the egg-output of strongyles at the 4th dat, whereas in the F-Nor1 occurred by the 8th. Values over the normal range were only achieved for creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH). The levels of blood urea nitrogen, creatinine, total proteins, albumin, globulins and, specially, LDH decreased after the administration of IVM. A significant positive correlation between the cyathostomin fecal egg-output and the LDH was probed. No adverse clinical reactions were observed in the horses receiving topical IVM. It is shown that measuring the levels of the LDH activity may assess the damage caused by cyathostomins at the gut level.

Key words: horses, deworming, pour on, silvopasturing

QUIMIOTERAPIA FRENTE A LA PARANFISTOMOSIS EN VACUNO RUBIA GALLEGA

Piñeiro, P., Suárez, J.L., Vázquez, L., Francisco, I., Dacal, V., Francisco, R., Paz-Silva, A., Sánchez-Andrade, R., Morrondo, P., Arias, M.*

Epidemiología y Zoonosis, Parasitología y Enfermedades parasitarias, Facultade de Veterinaria, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Universitario, s/n, 27002-Lugo (Spain). *E-mail: mariasol.arias@usc.es.

INTRODUCCIÓN

Debido a que la infección por *Fasciola hepatica* está considerada como la trematodosis más frecuente entre los rumiantes del noroeste de España, se aplican diferentes tratamientos antihelmínticos de actividad fasciolicida para reducir la infección en estos hospedadores definitivos. Sin embargo, en áreas con hábitats caracterizados por abundante humedad y temperaturas moderadas durante todo el año, como el noroeste de España, el ciclo de trematodos del género *Paramphistomidae* (*Calicophoron daubneyi* es la especie identificada en España) se ve igualmente favorecido, puesto que actúan como hospedadores intermediarios caracoles anfibios del género *Lymnaea* (*Galba truncatula*).

El tratamiento de la parafistomosis bovina no está muy extendido, en parte debido al diagnóstico erróneo mediante coprología, que técnicos sin experiencia pueden confundir con *F. hepatica*, y en parte porque se considera un proceso de patogenicidad moderada-leve.

En los últimos años se han llevado a cabo diferentes ensayos en los que se ha puesto de manifiesto que la prevalencia de parafistomosis aumenta en el ganado bovino, mientras que la de fasciolosis se mantiene en niveles constantes (Arias et al., 2010; 2011). Existen varias razones que pueden explicar esta situación, aunque la más plausible parece residir en el desconocimiento de su existencia junto con un diagnóstico erróneo que lleva a la aplicación de tratamientos ineficaces. En el presente estudio se analizan los resultados de la administración de dos productos frecuentemente empleados frente a las trematodosis en ganado vacuno.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el periodo de enero de 2008 – abril de 2009, se recogieron muestras individuales de heces de 36 vacas Rubia Gallega de una explotación situada en Sobrado dos Monxes (A Coruña), donde se mantenían en régimen semi-extensivo.

Las muestras se analizaron mediante la técnica coprológica de sedimentación, y los resultados se expresaron como el número de huevos por gramo de heces (Hpg).

Se establecieron 3 grupos de animales (todos ellos positivos en coprología al inicio de los tratamientos): Nb, formado por 14 vacas tratadas con netobimin al 15% (Hapasil[®], Schering-Plough, España); Oz, 15 bovinos que recibieron oxiclozanida al 3.4% (Zanil[®], Schering-Plough, España); T: 7 animales infectados que permanecieron sin tratamiento como testigos del ensayo.

La eficacia de la quimioterapia se determinó mediante el cálculo de los índices de eficacia 1 (IE1) y 2 (IE2), que miden el porcentaje de reducción de eliminación de huevos y de los animales positivos a la coprología, respectivamente, de acuerdo a las fórmulas siguientes:

$$IE1 = (1 - (\text{Hpg grupo tratado} / \text{Hpg grupo testigo})) \times 100$$

$$IE2 = (1 - (\text{Vacaciones positivas tratadas} / \text{Vacaciones testigo})) \times 100$$

Estos índices se interpretaron como altamente eficaces (próximos al 100%) o poco eficaces (por debajo del 90-95%).

Los resultados se analizaron con la pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y "U" de Mann-Whitney, dado que la eliminación de huevos en heces no se ajusta a una distribución normal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se puede observar la cinética de eliminación de huevos de *Calicophoron* en los 3 grupos de vacas. La administración de netobimin (Nb) redujo su presencia durante las 3 semanas post-tratamiento, y a partir de este momento se apreció un incremento hasta el final del estudio. En el grupo de vacas tratadas con oxiclozanida (Oz) no se observaron huevos del trematodo entre las semanas 1 y 13 post-tratamiento, en tanto que en el grupo testigo los animales resultaron positivos a la coprología durante todo el ensayo. Con la prueba de Kruskal-Wallis se demostró que existían diferencias estadísticamente significativas ($X^2= 132.326$, $P= 0.001$), y mediante "U" de Mann-Whitney se comprobó que estas diferencias se establecían entre todos los grupos empleados desde la 3ª semana post tratamiento.

Como se puede apreciar en la Tabla 1, los valores del IE1 oscilaron entre 0 y 87% después del tratamiento con netobimin (Nb), y entre el 87 y el 100% en el grupo tratado con oxiclozanida (Oz). El índice IE2 alcanzó valores del 0-64% en el grupo Nb, y del 7-100% tras la aplicación de Oz.

Los resultados obtenidos muestran que el netobimin (Hapasil®), fármaco frecuentemente empleado frente al trematodo *F. hepatica*, no es eficaz para el control de la parafistomosis en ganado vacuno en extensivo (Arias et al., 2009). Por el contrario, la oxiclozanida (Zanil®), antihelmíntico de actividad fasciolicida, mostró una elevada eficacia frente a trematodos *C. daubneyi*, por lo que su empleo resultaría de indudable utilidad en el control de trematodos que afectan a ganado vacuno explotado en áreas en las que pueden coexistir las 2 especies mencionadas.

La reaparición de huevos de *Calicophoron* a las 15 semanas del tratamiento con oxiclozanida indica que a pesar del efecto prolongado de este producto, la presencia de metacercarias en los pastos donde se alimentan las vacas favorece su reinfección, lo que aconseja la aplicación de medidas orientadas a dificultar el desarrollo de los caracoles hospedadores intermediarios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, M.S., Suarez, J.L., Hillyer, G.V., Francisco, I., Calvo, E., Sánchez-Andrade, R., Diaz, P., Francisco, R., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Paz-Silva, A. 2009. *Vet. J.* 182, 73-78.
- Arias, M., Piñeiro, P., Hillyer, G.V., Suarez, J.L., Francisco, I., Cortiñas, F.J., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A. 2010. *J. Parasitol.* 96, 626-63.
- Arias, M., Lomba, C., Dacal, V., Vázquez, L., Pedreira, J., Francisco, I., Piñeiro, P., Suarez, J.L., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Sánchez-Andrade, R., Paz-Silva, A. 2011. *Vet. Rec.* (en prensa).

Agradecimientos : Consellería de Innovación (10MDS261023PR, Xunta Galicia, España).

Tabla 1. Valores de los índices de eficacia del tratamiento con netobimin (Nb) y oxiclozanida (Oz) frente a la parafistomosis bovina (SPTR: semanas post-tratamiento).

SPTR	IE1 (%)		IE2 (%)	
	Nb	Oz	Nb	Oz
1	19	98	29	7
3	87	100	36	100
5	0	100	57	100
7	78	100	64	100
9	52	100	29	100
11	0	100	0	100
13	0	100	0	100
15	25	87	0	87

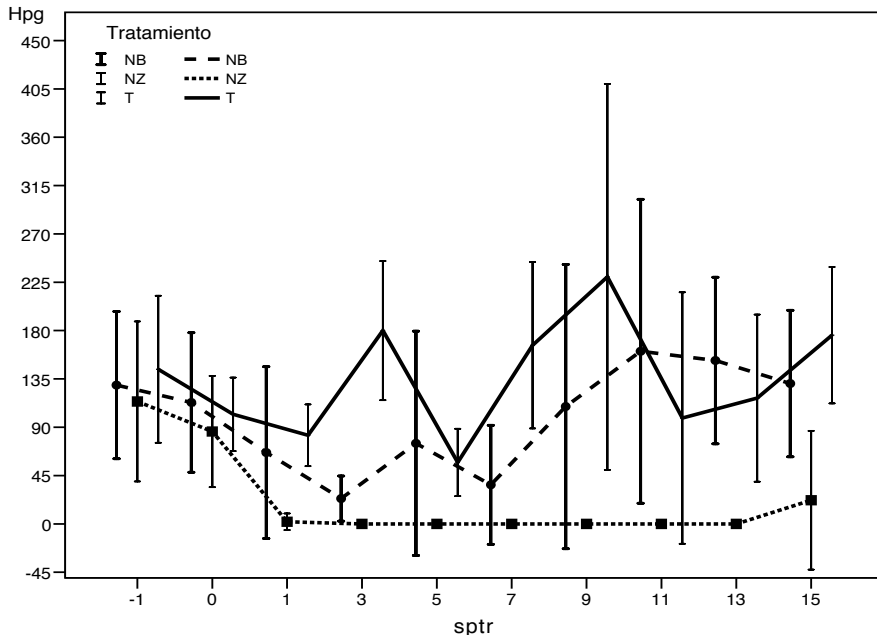


Figura 1. Cinética de eliminación de huevos de *Calicophoron daubneyi* en vacuno Rubia Gallega.

TITLE: CHEMOTHERAPY AGAINST *Calicophoron daubneyi* IN RUBIA GALLEGA CATTLE

ABSTRACT: The aim of the current investigation was to assess the possibilities of chemotherapy against paramphistomidae infection (*Calicophoron daubneyi*) in autochthonous Rubia Gallega cattle. For this purpose, three groups were considered: Nb, 14 animals treated with netobimin (Hapasil®); Oz, 15 cattle receiving oxyclozanide (Zanil®) and T, 7 infected animals remaining untreated as controls. The efficacy of the chemotherapy was assessed by estimating the Efficacy Index 1 (reduction on the fecal egg-output) and Efficacy Index 2 (reduction on the cattle shedding eggs by feces). The *Calicophoron* egg-output reduced to the 3rd week after the treatment with Netobimin, and then increased again to then end of study. In the cattle receiving oxyclozanide, *Calicophoron*-eggs were not observed in the feces from the 3rd to the 13th week after treatment. The EI1 values ranged from 0 to 87% in the group Nb, and between 87 and 100% in the group Nz. The EI2 values oscillated between 0 and 64% after the treatment with Netobimin, and between 7 and 100% in the Zanil-treated cattle.

Keywords: cattle, paramphistomosis, chemotherapy, Rubia Gallega

REVERSIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA AL ALBENDAZOL Y al CLORSULÓN EN OVINOS INFECTADOS POR *F. hepatica* MEDIANTE LA COMBINACIÓN DE AMBOS FARMACOS

Martínez-Valladares M.¹, Cordero-Pérez C.², Rojo-Vázquez F.A.^{1,2}

¹ Departamento de Sanidad Animal del Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Grulleros, 24346. León. ² Facultad de Veterinaria de León, Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Sanidad Animal, 24071. León. *E-mail: mmarva@unileon.es

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis ovina tiene especiales repercusiones ya que, además de las alteraciones que caracterizan a las formas aguda y subaguda, la infección crónica limita de forma notable las producciones reduciendo el crecimiento, alterando la conversión de alimentos, disminuyendo la producción de leche y de carne y afectando a la calidad y cantidad de la lana. Además, hay una clara interferencia con la fertilidad y fecundidad (Hope-Cawdery, 1984). Esto es especialmente importante puesto que la prevalencia de la fasciolosis está aumentando considerablemente en algunas zonas de Latinoamérica, África y Asia. El problema puede llegar a alcanzar dimensiones preocupantes si se tiene en cuenta la reciente aparición de resistencias a los antihelmínticos (RA) con acción fasciolicida.

En España, la fasciolosis ovina muestra una distribución relacionada con la existencia de determinados hábitats en los que existen limneas, caracoles que actúan como hospedadores intermediarios del parásito. En la comunidad autónoma de Castilla y León, destacan los lugares que cuentan con sistemas de regadío y deficiencias para el drenaje. En las zonas montañosas, el clima permite el desarrollo tanto de los hospedadores intermediarios como del parásito. Alguno de los factores indicados ha favorecido el desarrollo de resistencias a los fasciolicidas en la provincia de León. En este sentido, en 2006, se diagnosticó por primera vez en España, un problema de fallos terapéuticos debido a la RA frente al albendazol (ABZ) y triclabendazol (TCBZ) (Álvarez-Sánchez et al., 2006); y, desde entonces, se han diagnosticado nuevos casos, con la particularidad de que probablemente la prevalencia sea mayor ya que hasta el momento no hay fasciolicidas alternativos. Una de las principales premisas para evitar que la resistencia antihelmíntica adquiera proporciones indeseables es el desarrollo de nuevos métodos para el control de la fasciolosis.

En el presente trabajo se exponen los resultados de un estudio para determinar la eficacia de una combinación de ABZ y clorsulón (CLOR) en una explotación de ganado ovino con fasciolosis en la que previamente se había detectado resistencia a ambos tratamientos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un muestreo preliminar de explotaciones ovinas de la provincia de León con historial de fasciolosis. Para confirmar la infección, en cada rebaño se tomaron heces de 60 animales y se analizaron mediante la técnica de sedimentación calculando el número de huevos de *F. hepatica* por gramo de heces (hgh).

Ensayo preliminar de reducción de huevos en heces o FECRT (Faecal Egg Count Reduction Test):

Una vez confirmada la infección, se llevó a cabo el FECRT para detectar resistencia a los antihelmínticos frente a diferentes fármacos. Los animales seleccionados se dividieron en tres grupos de 12 ovinos cada uno y cada lote se trató con un antihelmíntico diferente a la dosis recomendada: G1-ABZ (7.5 mg/kg p.v.), por vía oral; G2-TCBZ (10 mg/kg p.v.), por vía oral; G3-CLOR (2 mg/kg p.v.), por vía subcutánea. Antes del tratamiento, cada oveja se pesó, se determinó su estado físico y condición corporal. Se tomaron muestras de heces de cada animal el día del tratamiento (día 0) y los días 15 y 30 post-tratamiento (p.t.). El análisis de las mismas se hizo por sedimentación, calculando el número de hgh en cada grupo mediante la media aritmética. El cálculo de la reducción de huevos en heces para cada fármaco se realizó los días 15 y 30 p.t. mediante la siguiente fórmula:

$$\text{FECRT (\%)} = (\text{Hgh día 0} - \text{Hgh día 15/30}) / \text{Hgh día 0} \times 100$$

Cuando el porcentaje es mayor al 95%, el fármaco se considera eficaz; si la reducción está entre el 90-95%, se sospecha resistencia; y si es menor del 95%, existe resistencia al fármaco correspondiente.

Ensayo de reducción de huevos en heces con una combinación de fármacos:

En el mismo rebaño se hicieron dos ensayos de valoración de la eficacia – mediante FECRT – de antihelmínticos tras administrar una combinación de ABZ y CLOR. En el primero, se administraron ABZ+CLOR a la mitad de la dosis terapéutica a un grupo de 9 animales infectados con *F. hepatica* (3.75 mg/kg p.v. ABZ + 1 mg/kg p.v. CLOR). En el segundo, se administraron ambos fármacos a dosis terapéutica (7.5 mg/kg p.v. ABZ + 2 mg/kg p.v. CLOR).

Tanto los ensayos como el cálculo de la FECRT se realizaron siguiendo las pautas para el ensayo preliminar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo preliminar del FECRT se muestran en la Tabla 1. Se tomaron heces los días 15 y 30 p.t. con objeto de calcular la eficacia del fármaco frente a las formas maduras e inmaduras de *F. hepatica*, respectivamente. En cepas susceptibles de *F. hepatica*, la eficacia del ABZ y del CLOR inyectable es exclusivamente frente a las formas maduras, con un porcentaje de reducción del 80-99%, ya que frente las inmaduras rondan el 50-70%. Sin embargo, el TCBZ es muy eficaz frente a todos los estadios del parásito con valores entre el 90-100% (Fairweather y Boray, 1999). En función del FECRT, ni el tratamiento con ABZ ni con CLOR fue eficaz frente a las formas maduras (Tabla 1). Además la eficacia de ambos fármacos frente a las inmaduras fue menor de los porcentajes esperados en ausencia de resistencia. El único fármaco eficaz fue TCBZ, con valores superiores a 95% tanto frente a inmaduros como a los adultos.

Entre los métodos de control de la RA propuestos, se encuentra la combinación de fármacos pertenecientes a distintas familias, una vez que el fallo terapéutico se haya descrito para cada uno de ellos. Los resultados del primer ensayo muestran que cuando se administra la mitad de la dosis de cada uno, la eficacia es muy baja, tanto frente a formas maduras como inmaduras (Tabla 2). Sin embargo, cuando la dosis utilizada fue la recomendada la combinación resultó eficaz alcanzando valores superiores al 95%, tanto frente a inmaduros como adultos (Tabla 2). No está totalmente aclarada la causa por la que la administración conjunta es eficaz, aunque podría deberse a un fenómeno relacionado con la transportadores de membrana dependientes de ATP (ABC transportes) como parece suceder con otras combinaciones de antiparasitarios.

Estos ensayos constituyen la primera descripción sobre una posible reversión de la RA en ovinos infectados por *F. hepatica*. Otros autores han demostrado la posibilidad de aumentar la eficacia antiparasitaria frente a tricostrongídeos ovinos combinando ABZ e ivermectina (Entrocasso et al., 2008).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Sánchez, M.A., Mainar-Jaime, R.C., Pérez-García, J. & Rojo-Vázquez, F.A. 2006. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole and albendazole in sheep in Spain. *Vet Rec.* 159:424-5.
- Entrocasso, C., Alvarez, L., Manazza, J., Lifschitz, A., Borda, B., Virkel, G., Mottier, L. & Lanusse, C. 2008. Clinical efficacy assessment of the albendazole-ivermectin combination in lambs parasitized with resistant nematodes. *Vet. Parasitol.* 155:249-56.
- Fairweather, I. & Boray, J.C. 1999. Fasciolicides: Efficacy, Actions, Resistance and its Management. *Vet J.* 158: 81-112.
- Hope-Cawdery, M.J. Review of the economic importance of fascioliasis in sheep and cattle. 1984. *Ir. Vet. News:* 14-22.
- Overend, D.J., Bowen, F.L. 1995. Resistance of *Fasciola hepatica* to triclabendazole. *Aust. Vet. J.* 72:275-6.
- Vara-Del Río, M.P. 2007. Control de la fasciolosis ovina: estudios sobre las resistencias a los fasciolicidas y desarrollo de técnicas para su detección y métodos de control. Tesis Doctoral, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

Agradecimientos: Estudio financiado por el INIA (Ref, RTA2006-00183-C03-02). Trabajo de M. Martínez-Valladares financiado con un contrato Jae-Doctor del CSIC.

Tabla 1. Hgh a lo largo del ensayo preliminar y porcentaje de reducción los días 15 y 30 post-tratamiento

Tratamiento	Día 0	Día +15	FECRT (+15)	Día +30	FECRT (+30)
ABZ	62,5	73,5	-17,60%	105	-68%
CLOR	85,5	12,7	85,20%	47,1	44,90%
TCBZ	47,7	1,4	97,20%	1,4	97,20%

Tabla 2. Hgh cada día de los ensayos con la combinación de fármacos y el porcentaje de reducción de huevos los días 15 y 30 post-tratamiento.

Tratamiento	Día 0	Día +15	FECRT (+15)	Día +30	FECRT (+30)
1/2 ABZ + 1/2 CLOR	90	75	16,70%	100	-13,30%
ABZ + CLOR	210	1,9	99,10%	3,8	98,20%

REVERSION OF THE ANTHELMINTIC RESISTANCE of *F. hepatica* RESISTANT TO ALBENDAZOLE AND CLORSULON IN OVINES BY COMBINING THE TWO DRUGS

ABSTRACT: Fasciolosis remains as an important disease in sheep and at present there is an increase in its prevalence in many countries. Some of the factors involved in this re-emergence are those related to the climate change, increase of irrigated areas and the development of anthelmintic resistances (AR). The chemoprophylaxis is the most commonly used method to control the infection and the inadequate use of drugs favours the development of AR. In order to avoid the spread of resistance is desirable to find new ways to control the infection. As a consequence, we have studied the efficacy – by using FECRT method – of a combination of two drugs in a flock with fasciolosis in which the resistance to albendazole (ABZ) and clorsulon (CLOR) was previously detected. Three trials were carried out. The first one was done to check the efficacy of ABZ, triclabendazole (TCBZ) and CLOR. The results showed that the reduction percentages were -17.60% (ABZ) and 85.20% (CLOR). When the combination of the two drugs was administered jointly with the half of the recommended dose of each, the reduction of the egg excretion was very low, -13.3%, against adult flukes. Nevertheless, when the two drugs were administered at therapeutic doses, the efficacy reached values higher than 98% against both adult and juvenile flukes. This study is the first report describing the possible reversion of the AR in sheep infected with *F. hepatica* by means of a drug combination.

Keywords: *Fasciola hepatica*; anthelmintic resistance; albendazole; clorsulon; combination.

PREVALENCIA DE LA RESISTENCIA ANTIHELMÍNTICA EN OVINOS DE CASTILLA Y LEÓN NATURALMENTE INFECTADOS POR TRICOSTRONGÍLIDOS

Martínez-Valladares, M.^{1*}, Álvarez-Sánchez, M.², Famularo, M.R.², Cordero-Pérez, C.², Fernández-Pato, N.², Castañón-Ordóñez, L.², Rojo-Vázquez, F.A.^{1,2}

¹ Departamento de Sanidad Animal del Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-ULE), Grulleros, 24346. León. ² Facultad de Veterinaria de León, Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Sanidad Animal, 24071. León.

*E-mail: mmarva@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por nematodos gastrointestinales en ganado ovino son las parasitosis más frecuentes en animales en pastoreo. El método de control más utilizado es la utilización de fármacos antihelmínticos; sin embargo, el inadecuado uso de los mismos ha dado lugar a la aparición de resistencia antihelmíntica (RA) frente a los más utilizados. Uno de los métodos de detección de RA en rebaños, es el ensayo de reducción de huevos en heces o Faecal Egg Count Reduction Test (FECRT) mediante el cual los animales se tratan con un determinado fármaco para posteriormente determinar la disminución de la excreción fecal de huevos. Por otra parte, actualmente se están poniendo a punto otros métodos *in vitro* más sensibles y que permiten la detección de resistencias de forma más rápida. Para la detección de la RA a los fármacos de la familia de los benzimidazoles se ha descrito el ensayo de eclosión de huevos o EHA (Egg Hatch Assay) que se basa en las propiedades ovicidas de estos antihelmínticos y en la capacidad de los huevos de cepas resistentes de embrionar y eclosionar a concentraciones más altas que los de las cepas susceptibles. Para detectar RA frente a lactonas macrocíclicas (LM) e imidazotiazoles (IM) se ha utilizado el ensayo de inhibición de la ingestión larvaria o LFIA (Larval Feeding Inhibition Assay) que trata de ver la inhibición – por parte de los antihelmínticos – de la ingestión de alimentos por las larvas de primer estadio (L1) de nematodos gastrointestinales (NGI). La prueba consiste en medir el nivel de ingestión de *Escherichia coli* marcada con un compuesto fluorescente (isotiocianato de fluoresceína-FITC), por L1 incubadas en diferentes concentraciones de antihelmíntico. Para determinar la dosis que inhibe el 50% de la ingestión, se lleva a cabo una valoración de la fluorescencia en el intestino de la L1. Con objeto de conocer la prevalencia de la RA en benzimidazoles, imidazotiazoles y lactonas macrocíclicas en rebaños de la CCAA de Castilla y León, hemos realizado este estudio, utilizando métodos *in vivo* e *in vitro*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante los años 2006-09 se tomaron muestras de heces en explotaciones de ganado ovino de Castilla y León con el fin de conocer la incidencia de las infecciones por NGI en aquellos rebaños que practicaban el pastoreo. De cada explotación se analizaron 20 muestras de diferentes animales mediante la técnica de flotación. Con el fin de determinar la prevalencia de la RA a los fármacos más utilizados se realizaron pruebas *in vivo* e *in vitro* en aquellas explotaciones positivas a la infección.

In vivo: Ensayo de Reducción de Huevos en Heces o FECRT

Se realizó en aquellos rebaños donde la media de huevos de tricostrongídeos por gramo de heces (hgh) fue igual o mayor a 150. En cada una de las explotaciones se seleccionaron 45 animales divididos en 3 grupos y cada uno de ellos tratado con un fármaco antihelmíntico diferente: G1 – albendazol (ABZ) (7,5 mg/kg p.v.), vía oral; G2 – levamisol (LEV) (7,5 mg/kg p.v.), vía oral; G3 – ivermectina (IV) (0,2 mg/kg p.v.), vía subcutánea. Cada oveja se pesó, se determinó su estado físico y condición corporal antes de realizar el tratamiento. Se tomaron muestras de heces a todos los animales el día de la desparasitación, día 0, y posteriormente entre 10-14 días post-tratamiento (p.t.). Todas las muestras se analizaron por flotación y el número de hgh en cada

grupo se estimó mediante el cálculo de la media aritmética. El porcentaje de reducción de huevos en heces para cada uno de los fármacos se realizó con la siguiente fórmula:

$$\text{FECRT (\%)} = (\text{hgh día 0} - \text{hgh día 10-14 p.t.}) / \text{hgh día 0} \times 100$$

Si el porcentaje de reducción de huevos en heces es mayor al 95%, es indicativo de que el fármaco ha sido eficaz. En caso de que la reducción sea entre el 90-95%, hay sospecha de resistencia y si es menor al 90% existe resistencia a dicho fármaco.

In vitro: EHA y LFIA

Los test in vitro se realizaron cuando la media de hgh en los rebaños fue menor a 150. En primer lugar se concentraron todos los huevos de las heces procedentes de cada una de las explotaciones.

Para poder llevar a cabo el EHA se siguió la técnica descrita por Coles et al. (1992). Los huevos se incubaron con 7 concentraciones seriadas de tiabendazol (TBZ) (0,01 – 0,7 µg/ml) durante 48 horas a 23°C. Tras este periodo de tiempo se calculó el porcentaje de huevos no embrionados para cada concentración y se estableció la dosis eficaz 50 (DE50), concentración de antihelmíntico necesaria para inhibir la eclosión del 50% de los huevos. En aquellos casos en que la DE50 fue superior a 0,1 µg/ml de TBZ la explotación se consideró resistente a los bencimidazoles.

El LFIA se realizó según el protocolo descrito por Álvarez-Sánchez et al. (2005) aunque con ligeras modificaciones tanto en la técnica como en las concentraciones utilizadas. A partir de la incubación de huevos a 23°C durante una noche se recuperaron las L1. Éstas se incubaron con 6 concentraciones de LEV (0,04–1,29 µg/ml) y/o IV (0,1–20ng/ml) conjuntamente con E. coli marcada con isotiocianato de fluoresceína como fuente de alimento para las larvas. Tras un periodo de incubación de 2 horas se determinó el porcentaje de L1 no fluorescentes para cada concentración y se determinó la DE50, concentración de antihelmíntico necesaria para inhibir la ingestión en el 50% de las L1. Valores de la DE50 por encima de 0,2 µg de LEV/ml y de 2,5 ng de IV/ml se asocian con la resistencia a los imidazotiazoles y a las lactonas macrocíclicas, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo de tres años se analizaron muestras de heces de más de 150 explotaciones de ganado ovino de Castilla y León con el fin de detectar la incidencia de la infección por nematodos gastrointestinales y las posibles resistencias a fármacos antihelmínticos. De entre todos los rebaños, en 24 de éstos la media de hgh superó los 150 por lo que se realizó el FECRT y los resultados se muestran en la Tabla 1. Teniendo en cuenta las explotaciones resistentes y sospechosas de resistencia conjuntamente en el 40,8% de los rebaños se describió un fallo terapéutico del LEV, en el 20,8% de la IV y en el 9,6% del ABZ. En algunas de estas explotaciones se describieron resistencias a más de un fármaco. Una de las 24 explotaciones fue resistente al ABZ y LEV (4%), dos explotaciones resistentes al LEV e IV (8%) y otra sospechosa de resistencia también a estos dos últimos fármacos (4%).

En un estudio preliminar durante los años 1999-2003 (Álvarez-Sánchez et al., 2006) llevado a cabo en la misma zona geográfica se determinó que el 38,5% de los rebaños fueron resistentes (34,6%) o sospechosos (3,9%) al LEV, el 23,5% fueron resistentes (15,7%) o sospechosos (7,8%) a la IV y que el 14,3% fueron resistentes (12,7%) o sospechosos (1,6%) al ABZ. Al comparar los resultados a lo largo de un periodo de tiempo de 10 años (1999-2009) se observa que se ha mantenido constante la prevalencia de la RA en los tres grupos de antihelmínticos mediante el FECRT. Sin embargo, al realizar las pruebas in vitro se demuestra un incremento significativo en los índices de prevalencia sobre todo para el ABZ y LEV (Tabla 2).

El incremento de la prevalencia de la RA mediante los ensayos in vitro puede ser debido a una mayor sensibilidad de éstos, aunque son necesarios más estudios comparativos entre métodos in vivo e in vitro.

Tabla 1. Número de rebaños resistentes y sospechosos según el FECRT

FÁRMACOS	REBAÑOS	RESISTENTE	SOSPECHOSO
LEV	22	7 (31,8%)	2 (9%)
IV	24	2 (8,3%)	3 (12,5%)
ABZ	21	1 (4,8%)	1 (4,8%)

Tabla 2. Número de rebaños resistentes según las pruebas in vitro (EHA y LFIA)

FÁRMACOS	ENSAYOS	RESISTENTE
LEV	13 LFIA	8 (61,5%)
IV	17 LFIA	4 (23,5%)
ABZ	17 EHA	6 (35,3%)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez-Sánchez, M.A., Pérez-García, J., Bartley, D., Jackson, F. & Rojo-Vázquez, F.A. 2005. Exp. Parasitol. 110. 56-61.
- Alvarez-Sánchez, M.A, Pérez-García, J., Cruz-Rojo, M.A & Rojo-Vázquez, F.A. 2006. Parasitol Res. 99, 78-83.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R. & Taylor, M.A, Waller, P.J. 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. Vet Parasitol. 44, 35-44.

Agradecimientos: Estudio financiado por el INIA (Ref. RTA2006-00183-C03-02). Trabajo de M. Martínez-Valladares financiado con un contrato Jae-Doctor del CSIC.

ANTHELMINTIC RESISTANCE PREVALENCE IN NATURALLY INFECTED OVINE BY TRICOSTRONGYLIDAE IN CASTILLA Y LEÓN

ABSTRACT: Gastrointestinal nematode infections in sheep are the most common parasites found in grazing animals. The most widely control method is the use of anthelmintic drugs, but the inappropriate use of them has led to the emergence of anthelmintic resistance (AR) against the most common. The aim of this study is to determine the prevalence of AR in drugs belonging to the families of benzimidazoles, imidazothiazoles and macrocyclic lactones in farms of Castilla y León by in vivo and in vitro methods. With this objective the Faecal Egg Count Reduction Test (FECRT) was carried out in farms when the eggs per gram in faeces were higher than 150. Taking into account jointly the resistant flocks and the flocks borderlines between resistance and susceptibility, we found a treatment failure of levamisole (LEV) in 40.8% of farms, of ivermectine (IV) in 20.8% and of albendazole (ABZ) in 9.6%. When the average in a flock was less than 150 eggs per gram in faeces the in vitro Egg Hatch Assay (EHA), for the detection of benzimidazole resistance, and the Larval Feeding Inhibition Assay (LFIA), for imidazothiazole and the macrocyclic lactone resistances, were carried out. According to these assays, 61.5% of flocks were LEV resistant, 35.3% IV resistant and 23.5% ABZ resistant. The increase of AR prevalence by in vitro techniques may be due to the greater sensitivity of these methods although we need more studies to compare in vivo and in vitro results.

Keywords: trichostrongylidae; anthelmintic resistance; FECRT; EHA; LFIA.

IMPACTO DE LA VACUNACIÓN FRENTE A CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 EM CERDAS Y LECHONES SOBRE LOS PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS EM EL PERIODO DE POST-DESTETE

Fraile, L.^{1,2*}, Sibila, M.¹, Nofrarías, M.¹, López-Jiménez, R.¹, López-Soria, S.¹, Pérez, D.¹, Eggen, A.³, Segalés, J.^{1,4}

¹ Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA), UAB-IRTA, Campus de la Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España. ² Universitat de Lleida, Lleida, España. ³ Intervet Schering/Plough International BV, Boxmeer, Holanda. ⁴ Departament de Sanitat i Anatomia Animals, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, España.
*Email: lorenzo.fraile@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

Las vacunas frente al circovirus porcino tipo 2 (PCV2) se pueden aplicar a las cerdas/primerizas y/o a los lechones. Estas vacunas son muy eficaces para controlar los casos clínicos de circovirus porcino (CP) y, además, han demostrado que mejoran significativamente los parámetros zootécnicos en los cerdos post-destete (Fachinger et al, 2008; Kekarainen et al., 2010). Por otra parte, se sabe que la presencia de títulos altos de anticuerpos frente a este virus en el momento de aplicar la vacuna en el lechón (de origen maternal) puede interferir con la respuesta serológica que induce la vacuna, disminuyendo el título de anticuerpos generados en el lechón (Fort et al, 2008). El objetivo de este estudio de campo es valorar el efecto que tiene la vacunación frente a PCV2 en las cerdas y en sus lechones sobre los parámetros zootécnicos durante la etapa de cría de los animales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja en la que se había confirmado previamente la presencia de CP. Una semana antes de la cubrición, 57 cerdas se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: cerdas vacunadas (V, n=26) que recibieron 2 mL de Porcilis PCV[®] (Intervet/Schering Plough) y cerdas no vacunadas (NV n=31) a las que se aplicó 2 mL de PBS (grupo control); en ambos casos los productos fueron aplicados intramuscularmente en las tablas del cuello. En el momento del parto, todos los lechones sanos (n=476) de estas cerdas se incluyeron en el estudio y no se permitieron adopciones de lechones entre cerdas. En el momento del destete (3-4 semanas de edad), los lechones se distribuyeron en dos grupos teniendo en cuenta la paridad y el tratamiento que había recibido la cerda. Así, de cada cerda, la mitad de la camada se vacunó (V) con el mismo producto vacunal y a la otra mitad se le administró PBS (NV), en ambos casos también intramuscularmente en las tablas del cuello. Por tanto, los 476 lechones incluidos en el estudio pertenecían a uno de los siguientes cuatro grupos experimentales: Cerda no vacunada-lechón no vacunado (NV-NV, n=134); Cerda no vacunada-lechón vacunado (NV-V, n=135); Cerda vacunada-lechón no vacunado (V-NV, n=104) y cerda vacunada-lechón vacunado (V-V, n=103).

A las 3-4, 12, 16, 21 y 26 semanas de vida se registró la condición física de los animales y el peso. La ganancia media diaria (GMD) se calculó dividiendo la diferencia entre el peso al final y al inicio del periodo por la longitud total del mismo. Además, se registró la mortalidad a lo largo de todo el estudio. La GMD y la mortalidad observada entre los cuatro grupos experimentales se comparó mediante un análisis de varianza, aplicando un test de Bonferroni para comparar los grupos entre sí, y un test Chi cuadrado, respectivamente. Además, se calculó el coeficiente de variación (CV) que tenía el peso al final del estudio (26 semanas de vida) para valorar la homogeneidad de este parámetro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observaron animales con pérdida de condición corporal alrededor de las 16 semanas de edad, pero no se confirmó laboratorialmente la presencia de CP en el lote de estudio, aunque el virus recirculó en la población (datos no mostrados). Además, a lo largo del periodo de engorde, no se observó en la población ningún brote de enfermedad, compatible con circovirus porcino, que requiriera un tratamiento general. La mortalidad observada fue numéricamente más baja en los grupos donde se vacunó al lechón (NV-V=5,2% y V-V=6%)

que en los grupos con lechones no vacunados (NV-NV=8,3% y V-NV=11,5%), pero las diferencias observadas no fueron significativas debido, probablemente, a una baja potencia estadística para valorar este parámetro ($p=0,28$).

La GMD observada en todo el periodo de estudio (de 4 a 26 semanas de vida) fue de 600, 614, 620 y 629 g/día para los grupos de lechones NV-NV, V-NV, NV-V y V-V, respectivamente. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre los grupos de lechones NV-NV y V-V. Sin embargo, si se observa el periodo 12-26 semanas (donde recircula el virus), la GMD fue de 710, 730, 750 y 760 g/día para los grupos de lechones NV-NV, V-NV, NV-V y V-V, respectivamente y se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de lechones vacunados y el NV-NV. Por otra parte, el peso de los cerdos al final del estudio (26 semanas de vida) fue significativamente más alto en el grupo de lechones V-V que en el grupo NV-NV (Tabla 1). Además, la homogeneidad de los animales en el momento de ir al matadero (valorada como un menor CV) fue mejor en los grupos donde se vacunaron los lechones (NV-V=10,3% y V-V=8,5%) que en los grupos donde no se vacunaron estos animales (NV-NV=13,8% y V-NV=11,6%).

Los parámetros zootécnicos y la homogeneidad del lote en el momento de ir al matadero fueron significativamente mejores en los lechones vacunados frente a PCV2 en el momento del destete (independientemente del tratamiento de la madre) que en lechones no vacunados procedentes de madres no vacunadas. Estos resultados sugieren que aunque pueda existir una interferencia en la respuesta humoral vacunal del lechón debido a la presencia de anticuerpos colostrales (Fort et al., 2008), la vacunación frente a PCV2 resulta muy efectiva en relación a la mejora de parámetros productivos. Los mejores resultados zootécnicos se obtuvieron en el grupo V-V pero no fueron significativamente diferentes del grupo NV-V. En todos los casos sería importante realizar una valoración económica para decidir el protocolo de vacunación más efectivo para los lechones en las condiciones de este estudio. Además, no se puede excluir la posibilidad que una vacunación más tardía en lechones procedentes de madres vacunadas podría mejorar, todavía más, los resultados zootécnicos obtenidos en el grupo V-V debido a que se disminuiría la interferencia en la respuesta humoral tras la vacunación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Fachinger, V., Bischoff, R., Jedidia, S.B., Saalmuller, A., Elbers, K. 2008. Vaccine 26:1488-1499.
- Fort, M., Sibila, M., Allepuz, A., Mateu, E., Roerink, F., Segales, J. 2008. Vaccine 26:1063-1071.
- Kekarainen, T., McCullough, K., Fort, M., Fossum, C., Segalés, J., Allan, G.M. 2010. Vetimm.136: 185-193.

Tabla 1. Peso (Kg) y desviación estándar observada entre los diferentes grupos experimentales a lo largo del estudio.

Grupo	Edad (semanas)*				
	3-4	12	16	21	26
NV-NV	7,2 ± 1,3 ^a	29,6 ± 5 ^a	48,9 ± 7,1 ^a	75,2 ± 10,7 ^a	95,06 ± 13,1 ^a
NV-V	7,4 ± 1,4 ^a	29,7 ± 5 ^a	49,8 ± 7,6 ^a	78,2 ± 10 ^a	98,02 ± 10,1 ^{a,b}
V-NV	7,3 ± 1,3 ^a	30,9 ± 5,6 ^a	50,8 ± 7,9 ^a	77,8 ± 10,7 ^a	97,4 ± 11,3 ^{a,b}
V-V	7,1 ± 1,4 ^a	29,9 ± 5,7 ^a	49,8 ± 7,8 ^a	78,6 ± 8,7 ^a	99,21 ± 8,4 ^b

* Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

IMPACT OF SOW AND PIGLET PCV2 VACCINATION ON POST-WEANING PRODUCTION PARAMETERS

ABSTRACT: Porcine circovirus type 2 vaccines have demonstrated to be very efficient to control postweaning multisystemic wasting syndrome. It is known, however, that high PCV2 antibody titres in piglets at vaccination may interfere with the serological response elicited by the vaccine. Therefore, the objective of this field study was to assess the effect of both sow and piglet vaccination with a single dose of Porcilis PCV® on productive parameters at the post-weaning area. At farrowing, all healthy piglets (n=476) from sows that were vaccinated or not against PCV2 one week before mating were included in the study. From each sow, half of the litter was vaccinated with the same vaccine and the other received placebo. Therefore, the selected animals belonged to one of these 4 groups: Non-vaccinated sows-Non-vaccinated pigs (NV-NV, n=134), Non-vaccinated sows-vaccinated pigs (NV-V, n=135); vaccinated sows- Non-vaccinated pigs (V-NV, n=104) and vaccinated sows-vaccinated pigs (V-V, n=103). All animals were weighted and scored for physical condition at 3-4, 12, 16, 21 and 26 weeks of age and production parameters were registered. The global mortality rate was lower in vaccinated piglets (NV-V=5.2% and V-V=6%) than in non-vaccinated (NV-NV=8.3% and V-NV=11.5%) ones. Average daily weight gain from 4 to 26 weeks of age was 600, 614, 620 and 629 g/day for NV-NV, V-NV, NV-V and V-V piglets, respectively. Statistical differences (p<0.05) were only observed between the NV-NV and V-V groups. In conclusion, PCV2 vaccination in piglets at weaning was able to significantly improve production parameters (independently of the PCV2 vaccination sow status) in comparison with non-vaccinated piglets from non-vaccinated sows.

Keywords: PCV2, vaccine, clinical efficacy, production parameters

DETECCIÓN DE LA PRESENCIA DEL VIRUS JSRV EN INTESTINO DELGADO Y NÓDULOS LINFÁTICOS MESENTÉRICOS DE CORDEROS HIJOS DE OVEJAS INFECTADAS

Borobia, M.*, Ramos, J.J., Ferrer, L.M., García de Jalón, J.A., Ortín, A. y De las Heras, M.
Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Miguel Servet 177. 50013
Zaragoza. *E-mail: mborobia@unizar.es.

INTRODUCCIÓN

El adenocarcinoma pulmonar ovino (APO, adenomatosis pulmonar ovina, jaagsiekte) es una neoplasia contagiosa que afecta al pulmón de los ovinos. Está muy difundida en nuestro país y representa entre un 20-30% de los problemas respiratorios crónicos de este ganado. Esta enfermedad está causada por un betaretrovirus exógeno (JSRV) que se replica principalmente en los neumocitos tipo II y en las células bronquiales no ciliadas (células Clara) (Palmarini et al., 1996, 1999). Se piensa que la vía principal de transmisión de la enfermedad es la aerógena, a través del fluido pulmonar que eliminan los animales clínicamente afectados, que tiene un alto contenido en partículas víricas (Sharp y Herring, 1983; Sharp y DeMartini, 2003). Sin embargo, utilizando técnicas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), se ha conseguido demostrar la existencia de un estado virémico y de una diseminación del virus en diversos tejidos linfoides y en leucocitos de sangre periférica (linfocitos B, T y monocitos), tanto de animales clínicamente afectados como de animales con infección subclínica (Palmarini et al., 1996; González et al., 2001). Este hecho sugiere la posibilidad de que existan otras vías de transmisión además de la aerógena, en concreto la vía vertical a través de las secreciones lácteas, ya que el calostro contiene una gran cantidad de células linfoides y monocíticas que pueden atravesar la barrera intestinal de los corderos neonatos y colonizar sus nódulos linfáticos (Tuboly et al., 1995; Tuboly y Bernath, 2002). En este sentido, nuestro grupo de investigación, en colaboración con otros grupos europeos que también trabajan en esta enfermedad, ha demostrado recientemente la presencia de ADN proviral en calostros y leche de ovejas infectadas por JSRV, y la presencia del provirus en la sangre de algunos de los corderos que fueron alimentados con estos calostros (Grego et al., 2008).

El objetivo de este trabajo ha sido aportar nuevas evidencias que permitan confirmar la transmisión del JSRV a través del calostro. Para ello, se ha evaluado el intestino delgado y los nódulos linfáticos mesentéricos de corderos neonatos nacidos de hembras infectadas por JSRV y amamantados de forma natural con calostros maternos, buscando la posible presencia del virus en estos tejidos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de muestras de tejidos de corderos:

Los corderos utilizados en el presente estudio preliminar, pertenecen a un Proyecto de Investigación más amplio en el cual se pretende estudiar a corderos hijos de 22 ovejas infectadas por JSRV de forma natural, y de 7 ovejas libres de la infección. El ciclo reproductivo de estas hembras fue controlado mediante esponjas vaginales de progestágenos (acetato de flugestona) que se retiraron a los 14 días tras su colocación. A continuación, se inoculó a cada animal una dosis de 400-450 Unidades Internacionales de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) por vía intramuscular. Los corderos nacieron de forma natural y los partos fueron supervisados con el objetivo de poder solucionar cualquier complicación que pudiera surgir. Tras el nacimiento, fueron secados e identificados, se les desinfectó el cordón umbilical y se les inoculó un complejo vitamínico AD₃E. Se dejó que mamasen libremente de sus madres, controlando que el encalostro se realizara de forma adecuada. Los animales fueron incluidos de manera aleatoria en lotes homogéneos en número y fueron sacrificados según el siguiente patrón: inmediatamente tras el nacimiento sin haber ingerido calostro, a las 12, 24, 48 y 72 horas tras el nacimiento y a los 5 y 10 días tras el nacimiento.

Los corderos fueron sacrificados humanitariamente siguiendo los métodos y productos recomendados por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la

Universidad de Zaragoza (CEAUAZ). Tras el sacrificio, se procedió a la realización de las necropsias en las que se recogieron muestras de duodeno, yeyuno, íleon terminal (que contiene placas de Peyer) y nódulos linfáticos mesentéricos de los distintos tramos intestinales, utilizando material estéril para cada una de ellas. Las muestras de tejidos se tomaron por duplicado de modo que una parte se fijó con buffer de cinc y se procesó para realizar la técnica de inmunohistoquímica, y otra parte fue congelada en N₂ líquido y se almacenó a -80° C hasta su posterior análisis mediante PCR.

Para este trabajo preliminar que presentamos, se seleccionaron los citados tejidos de un grupo de 14 corderos hijos de ovejas infectadas por JSRV de forma natural y de otro grupo de 7 corderos descendientes de ovejas libres de la infección.

Detección de la presencia de JSRV en las muestras de intestino y nódulos linfáticos mesentéricos:

Se analizó la presencia de ADN proviral de JSRV mediante PCR y la presencia de proteínas estructurales de JSRV mediante inmunohistoquímica.

PCR: Se utilizó un kit comercial (QIAamp DNA Mini Kit, de Qiagen) para extraer el ADN de las muestras de estos tejidos. Una vez extraído el ADN, éste fue cuantificado mediante un espectrofotómetro NanoDrop y se realizó el PCR específico (Palmarini et al., 1996) analizando tres réplicas de cada muestra. Como control positivo se utilizó el plásmido LTR-gag pGEM-T. También se incluyeron controles negativos, tanto durante la extracción del ADN como durante la amplificación. Los productos amplificados fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio. Con el fin de evitar contaminaciones cruzadas, las fases de extracción de ADN, preparación de la mezcla de PCR y electroforesis se llevaron a cabo en laboratorios físicamente separados y distanciados, y se empleó una solución de ácido clorhídrico para descontaminar las superficies y el material de trabajo.

Inmunohistoquímica: Las secciones de duodeno, yeyuno, íleon terminal y nódulos linfáticos mesentéricos se analizaron mediante procedimientos inmunohistoquímicos rutinarios, empleando el sistema Avidina-Biotina peroxidasa de Vector. Como antisueros primarios se emplearon JSRV-MA frente a proteínas de la cápside de JSRV y JSRV-SU frente a las proteínas de superficie de este virus.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

PCR: En ninguna de las muestras de tejidos analizadas se detectó un resultado positivo.

Inmunohistoquímica: Dentro del grupo de controles positivos, en muchas de las muestras de tejidos analizadas se han detectado células claramente positivas utilizando el anticuerpo anti JSRV-MA, aunque en número muy reducido. Este hecho explicaría la falta de positividad encontrada utilizando la técnica de PCR. Aunque los resultados son todavía preliminares y hacen referencia a un número limitado de animales, resultan bastante alentadores, ya que el patrón encontrado parece estar asociado con la edad del individuo. Como puede observarse en la Tabla 1, en los corderos de pocas horas de vida la positividad se encuentra sólo en las células de tramos intestinales, mientras que en los de edad más avanzada sólo se observa en las células de los nódulos linfáticos mesentéricos, detectándose en ambos tejidos en animales de edades intermedias. Utilizando el otro anticuerpo, anti JSRV-SU, el número de muestras positivas ha sido mucho menor, si bien las muestras que han sido positivas con este anticuerpo también lo han sido con el primero.

También se han testado todas las muestras de tejidos pertenecientes a los corderos controles negativos utilizando los dos anticuerpos. No se ha encontrado positividad en ninguna de ellas.

Estos datos muestran que el virus, integrado dentro de células, es capaz de atravesar la barrera intestinal y colonizar los nódulos linfáticos mesentéricos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- González, L., García-Goti, M., Cousens, C., Dewar, P., Cortabarría, N., Extramiana, A.B., Ortín, A., De Las Heras, M., Sharp, J.M. 2001. *J. Gen. Virol.* 82:1355-1358.
- Grego, E., De Menegh, D., Álvarez, V., Benito, A.A., Minguijón, E., Ortín, A., Matón, M., Moreno, B., Pérez de Villarreal, M., Alberti, A., Capucchio, M.T., Caporale, M., Juste, R., Rosati, S., De las Heras, M. 2008. *Vet. Microbiol.* 130:247-257.
- Palmarini, M., Holland, M.J., Cousens, C., Dalziel, R.G., Sharp, J.M. 1996. *J. Gen. Virol.* 77: 2991-2998.
- Palmarini, M., Sharp, J.M., De las Heras, M., Fan H. 1999. *J. Virol.* 73:6964-6972.
- Sharp, J.M., Herring, A.J. 1983. *J. Gen. Virol.* 64:2323-2327.
- Sharp, J.M., DeMartini, J.C. 2003. *Curr. Top. Microbiol.* 275: 55-80.
- Tuboly, S., Bernáth, S., Glávits, R., Kovács, A., Megyeri, Z. 1995. *Acta. Vet. Hung.* 43:105-115.
- Tuboly, S., Bernáth, S. 2002. Ed: Davis M.K. et al. Kluwer Academic/Plenum Publishers. 107-114.

Tabla 1: Detección de la presencia del virus JSRV por métodos inmunohistoquímicos en tejidos de corderos de diferentes edades, utilizando los anticuerpos JSRV MA y JSRV SU.

Nº cordero	Edad al sacrificio	JSRV MA	JSRV SU
1	Sin ingerir calostro	Negativo	Negativo
2	Sin ingerir calostro	Negativo	Negativo
3	12 h	Negativo	Negativo
4	12 h	PP	PP
5	24 h	PP y NLMES	Negativo
6	24 h	PP	Negativo
7	48 h	Negativo	Negativo
8	48 h	Negativo	Negativo
9	72 h	PP y NLMES	Negativo
10	72 h	NLMES	Negativo
11	5 d	NLMES	Negativo
12	5 d	NLMES	Negativo
13	10 d	NLMES	NLMES
14	10 d	NLMES	Negativo

PP: Positivo en placa de Peyer. NLMES: Positivo en nódulo linfático mesentérico.

JSRV CAN BE DETECTED IN SMALL INTESTINE AND MESENTERIC Lymph NODES OF LAMBS FROM JSRV INFECTED EWES

ABSTRACT: Ovine pulmonary adenocarcinoma is a contagious lung cancer of sheep, very common in Spain. This disease is caused by an exogenous betaretrovirus (JSRV) that replicates in the type II pneumocytes and Clara cells in the lung. Respiratory route is supposed to be the main route of transmission, by lung fluids from clinically affected animals. Studies using PCR techniques found JSRV in lymphoid tissues and in peripheral blood mononuclear cells, in diseased or healthy in-contact animals, suggesting that other routes of transmission could be involved. Colostrum contains high number of lymphoid and monocytic cells that can pass the intestinal barrier of newborn lambs and colonize their lymph nodes. The objective of this study was to evaluate the presence of JSRV in the small intestine and mesenteric lymph nodes of lambs from JSRV infected ewes and fed by their mothers. Although the obtained results are based in a small number of animals, it looks that the type of tissue where we have detected structural proteins of JSRV depends on the age of the lamb. We have found these proteins in the small intestine of newborn lambs (< 24 hours), in mesenteric lymph nodes of older lambs (5-10 days) and in both tissues of lambs at intermediate age (24-72 hours).

Keywords: Ovine pulmonary adenocarcinoma, JSRV, colostrum, lambs.

ELISAS DE PÉPTIDOS PARA LA DETECCIÓN DE OVINOS SEROPositIVOS FRENTE A LENTIVIRUS DE PEQUEÑOS RUMIANTES EN LA ZONA CENTRO NORTE ESPAÑOLA

Ramírez, H.^{1a}, de Andrés, X.^{1a}, Reina, R.¹, San Román, B.¹, Glaría, I.¹, Crespo, H.¹, Jauregui, P.¹, Leginagoikoa, I.², Minguijón, E.², Juste, R.², Salazar, E.³, Pérez, M.M.³, Luján, L.³, Polledo, L.⁴, García-Marín, J.F.⁴, Riezu, J.I.⁵, Borrás, F.⁵, de Andrés, D.¹, Amorena, B.^{1*}

¹ Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-UPNA-Gobierno de Navarra) 31192 Navarra;

² NEIKER-Tecnalia, 48160 Derio, Bizkaia; ³ Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, 21191 Zaragoza; ⁴ Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071 León; ⁵ Centro de Investigación y Medicina Aplicada, 31008 Navarra.

*E-mail: bamorena@unavarra.es.^a Ramírez y de Andrés han contribuido por igual al trabajo.

INTRODUCCIÓN

Para el diagnóstico de Lentivirus de pequeños rumiantes (LVPR), que agrupan al virus Maedi Visna (VMV) y al de la artritis encefalitis caprina (VAEC), se dispone de pruebas serológicas, siendo tres los ELISAs más frecuentemente empleados en Europa: Elitest, de Hyphen-Biomed, Francia (Saman et al., 1999), de probada utilidad en ovinos españoles (Varea et al., 2001); Chekit (AG-CHEKIT CAEV / MVV kit) de IDEXX Switzerland AG, Suiza (Zanoni et al., 1994); y Pourquier (Institut Pourquier, Montpellier, Francia). El primero y el tercero emplean para el tapizado de los pocillos un péptido de la región transmembrana (TM) de la proteína de la envoltura del virus y la proteína recombinante p25 de la cápside viral simultáneamente, mientras que el segundo emplea un virus completo. Los tres tests se basan en un diseño "monoestirpe" lo que puede afectar a la eficacia del test para estirpes de distinta composición antigénica (Ramírez et al., 2009; Reina et al., 2009) y explicar que no se consideren individualmente "gold estándar". En ovinos españoles se ha demostrado que la sensibilidad del ELISA supera a la del test de inmunodifusión en agar (IDGA; Saman et al. 1999; Varea et al., 2001). Este estudio pretende investigar si el empleo de ELISAs de péptidos sintéticos, generados según la constitución genética/antigénica de estirpes locales españolas, permite detectar infecciones por LVPR en ovinos españoles, tanto los diagnosticados mediante ELISAs comerciales como los no detectados por estos tests.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron dos ELISAs disponibles (Elitest y Chekit) para, en un principio, determinar el estatus serológico (seropositivo/seronegativo) de los animales y después, hacer la comparación con los resultados obtenidos en los ELISAs de péptidos generados en este estudio. A partir de las secuencias nucleotídicas de LVPR de ovinos de la zona centro-norte española se diseñaron 5 péptidos de 15 aminoácidos de proteínas de envoltura (3 de TM; y 2 de superficie, SU) y se compararon estas secuencias entre sí y con otras disponibles en el GenBank, según el método de Glaría y col. (2009). Los péptidos correspondían a regiones hidrofílicas (Hoop y Woods, 1981; y Kyte y Doolittle, 1982) y antigénicas (Kolaskar y Tongaonkar, 1990), según el software ExPASy Proteómica del servidor: <http://www.expasy.ch/>. Los péptidos fueron sintetizados por Thermo Scientific Co.

Los animales (fuente de suero) empleados en el estudio comparativo de las pruebas ELISA fueron ovinos de la zona centro-norte española (n = 539) procedentes de los brotes por LVPR de los tipos nervioso de Castilla y León (raza Assaf) y articular de Aragón (Rasa Aragonesa), así como de rebaños mixtos respecto del tipo de LVPR, incluyendo entre ellos rebaños de Navarra (distintas razas) y País Vasco (raza Latxa). Los rebaños fueron: I (n = 50) Guipúzcoa, supuestamente con resistencia natural a LVPR porque presentaba una seroprevalencia sorprendentemente baja en Elitest en ausencia de medidas de control frente a LVPR; II (n = 50) de Vizcaya, rebaño saneado de VMV utilizando Elitest; III (n = 70), animales positivos y negativos a Elitest de diferentes razas situado en Navarra; IV (n = 157) de Castilla-León, rebaño con animales seropositivos y seronegativos a Elitest, y en el que la forma clínica principal por VMV era la nerviosa; V, (n = 118) de Aragón (todos Elitest positivos), en el que la forma clínica de la infección era articular; VI (n = 60) también de Aragón, rebaño saneado de LVPR utilizando Elitest; VII (n = 34), integrado por animales afectados clínicamente no incluidos en los grupos anteriores y procedentes de los brotes nervioso de León (n = 23 ovinos con visna) y artrítico de Aragón (n = 11 ovinos con artritis).

Como control negativo se utilizaron sueros de 135 ovinos y caprinos libres de LVPR procedentes de Italia, Islandia y Reino Unido (países libres de LVPR). Para cada ELISA de péptidos sintéticos, se calculó el punto de corte sumando a la absorbancia media de los sueros control negativo tres veces la desviación estándar. La metodología seguida para estos ELISAs consistió en sensibilizar cada pocillo con 300 ng de péptido en tampón carbonato/bicarbonato (0,1M pH 9,6). Tras un bloqueo, se añadió el suero diluido 1/20 en tampón de dilución. La reacción del péptido con los anticuerpos del suero se detectó mediante proteína G (0,2 µg/ml) y se reveló con el sustrato de la peroxidasa ABTS (Chemicon, Millipore). En los animales que presentaban discrepancias de diagnóstico entre los distintos ELISAs, se emplearon las técnicas de PCR y western blot (Ramírez et al., 2009) para confirmar la posible infección.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ensayos ELISA generados con los cinco péptidos y dos tests ELISA comerciales de referencia (Elitest y Chekit) se compararon en cuanto a la capacidad de detección de seropositivos entre 539 animales de rebaños saneados o infectados por LVPR, entre los que se incluían los de brotes de artritis (con virus de genotipo B2, tipo VAEC) y encefalitis (con virus de genotipo A, tipo VMV); y rebaños infectados con LVPR de genotipos diferentes. Según se resume en la Tabla 1, en los 4 grupos de ovinos Elitest o Chekit negativos de las poblaciones III, IV, V y VI el conjunto de los 5 ELISAs de péptidos detectó más de un 27% de animales seropositivos por población. Algunos de ellos fueron también positivos en PCR y/o western blot, corroborándose la infección y demostrándose la utilidad de los ELISAs de péptidos para detectar infecciones que escapan a su detección por ELISAs comerciales, aunque la proporción de seropositivos a los ELISAs de péptidos variaba entre rebaños y entre ELISAs. Ninguno de los ELISAs utilizados (comerciales o de péptidos) detectó por sí solo todos los animales seropositivos en la población estudiada.

En cuanto a los ELISAs de péptidos, considerados individualmente, uno de ellos resultó poco reactivo y otro de reactividad media-alta, en general; un tercer ELISA detectó más del 90% de los seropositivos en el grupo de animales del rebaño IV que eran Elitest positivos. Dicho ELISA (del péptido 98M, diseñado a partir de secuencias de la región SU V5 de la envoltura de los LVPR del brote nervioso de Castilla y León), mostró en el brote nervioso mencionado una sensibilidad y una especificidad superiores al 90% y 84%, respectivamente. Además, entre los animales afectados clínicamente (grupo VII), el 100% de los que presentaban afección nerviosa en el brote visna de León (23/23) fueron positivos en este ELISA, pero sólo una minoría (9%, 1/11) de los animales artríticos del brote de artritis de Aragón lo fueron. Los dos restantes ELISAs de péptidos reaccionaron en distinta frecuencia según el tipo de infección (VMV o VAEC), abriendo así la posibilidad futura de realizar con ambos y el ELISA de 98M una primera tipificación (VMV/VAEC), a título preliminar, de los rebaños infectados con LVPR.

En conclusión, una cuidadosa selección de la prueba de diagnóstico para la detección de seropositivos, basada en el conocimiento del tipo genético/antigénico del virus local presente en el rebaño, así como una aplicación de ELISAs o ensayos adicionales que permitan detectar la infección en animales seronegativos, son relevantes para llevar a cabo un control efectivo de la infección con el objetivo de llegar a cualificar a un rebaño como libre de LVPR.

Agradecimientos: Financiado por consejería de Industria. Gobierno de Navarra (IIQ010449.R11) y CICYT (AGL2007-66874-C04-01/GAN y AGL2010-22341-C04-01). Protegido por solicitud de patente española N° P201031774

REFERENCIAS

- Glaría, I., Reina, R., Crespo, H., de Andres, X., Ramirez, H., et al., 2009, Vet. Microbiol. 138,156–162.
- Hopp T.P. & Woods, K.R., 1981, Proc Natl Acad Sci USA 78, 3824-3828.
- Kolaskar, A.S. & Tongaonkar, P.C., 1990, FEBS Lett 276, 172-174.
- Kyte, J. & Doolittle, R., et al., 1982, J Mol Biol 157, 105-132.
- Ramírez, H., San Román, B., Glaría, I., Reina, R., Hernández, M., et al., 2009, 72, 1085-1096.
- Saman E, Van Eynde G, Luján L, et al., 1999, Clin Diagn Lab Immunol 6, 734-740.
- Varea R., Monleon, E., Pacheco, C., Lujan, L., Bolea, R et al., 2001, J Vet Diagn Invest 13, 301-307.
- Zanoni, R.G, Vogt, H.R, Pohl, B. Bottcher, J.

Bommeli, W., et al., 1994, Zentralbl Veterinarmed [B] 41, 662-669. • Reina, R., Grego, E., Profiti, M., Glaria, I., Robino, P. et al, 2009, Vet Microbiol. 138, 251-257.

Tabla 1. Porcentaje de ovinos seropositivos en el conjunto de los 5 ELISAs de péptidos, Chekit y Elitest

Origen (tipo de infección)	Rebaño o grupo de ovinos		Nº sueros	Ovinos (%) seropositivos en		
	Estatus y enfermedad en el rebaño	Resultado en test comercial		ELISAs péptidos	Chekit	Elitest
I) Guipúzcoa	Con posible resistencia natural	Elitest negativo	50	44	14	0
II) Vizcaya	Infección LVPR controlada por Elitest	Elitest negativo	50	34	0	0
III) Navarra (distintos tipos LVPR)	Infección con LVPR sin afección clínica	Chekit positivo	52	69,2	100	59,6
		Chekit negativo	18	27,8	0	11,1
IV) Castilla-León (LVPR tipo VMV)	Encefalitis	Elitest positivo	96	98	88,4	100
		Elitest negativo	61	44,3	23	0
V) Aragón (LVPR tipo VAEC)	Artritis	Chekit positivo	118	71,8	100	87,2
VI) Aragón	Infección LVPR controlada por Elitest	Chekit negativo	60	36,6	0	0

PEPTIDE ELISAS TO DETECT SHEEP SEROPOSITIVE TO SMALL RUMINANT LENTIVIRUSES

ABSTRACT: Five peptides were designed according to the genetic/amino acidic sequence profiles of circulating small ruminant lentiviruses (SRLV) from sheep of North-Central Spain. The ELISAs produced with these peptides and two commercial ELISAs used as controls were tested against a panel of 539 sera, involving animals from controlled flocks as well as SRLV-induced arthritis (genotype B2) and encephalitis (genotype A) outbreaks, and animals from flocks infected with different SRLV types. The results obtained indicate that a proportion of animals seronegative to commercial tests is seropositive to one or more synthetic-peptide ELISAs. This proportion varied between flocks and between peptides. None of the commercial ELISA tests or the peptides ELISAs was able to detect all the infected animals in the studied population. One peptide ELISA (with consensus A sequence of SU V5 region of circulating SRLV) detected seropositives in most animals in the nervous outbreak (sensitivity and specificity above 90% and 84%, respectively), all the visna affected sheep tested from this outbreak and only 9% of the arthritic animals from the arthritic outbreak. Two other peptide ELISAs had different reactivity patterns in caprine arthritis encephalitis type (CAEV) and Visna/ Maedi (VMV) type infections which may be useful to genetically classify flock infection. A choice of the diagnostic test, based on the genetic/antigenic type of local circulating SRLV for the detection of seropositives, as well as the application of additional tests to detect infection amongst seronegatives, are essential to reach the SRLV-free status of the flock.

Keywords: Maedi Visna, sheep, ELISA, synthetic peptides, Elitest, Chekit

EFICACIA DE UN TRATAMIENTO CON OXITETRACICLINA Y GENTAMICINA FRENTE A LA INFECCIÓN POR BRUCELLA SUIIS EN CERDOS.

Dieste, L.¹, De Miguel, M.J.¹, Marín, C.M.¹, Barberán, M.², Blasco, J.M.¹, Muñoz, P.M.^{1*}

¹Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón (CITA). Avda. Montañana, 930. 50059. Zaragoza (España). ²Departamento de Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza *E- mail: pmmunoz@aragon.es

INTRODUCCIÓN

La brucelosis porcina causada por *Brucella suis* biovariedad 2 (*B. suis* biovar. 2) se considera una enfermedad emergente en toda Europa (Garin Bastuji et al. 2000; Godfroid et al. 2002), que se manifiesta clínicamente con severos problemas de abortos e infertilidad, y que ocasiona pérdidas económicas importantes en el sector porcino. Por fortuna, *B. suis* biovar. 2, a diferencia de las biovariedades 1 y la 3 de esta misma especie, se considera muy poco patógena para el hombre (EFSA 2009). Recientes estudios demuestran que la prevalencia de esta infección en jabalí es muy elevada en la Península Ibérica (Muñoz et al. 2010) y, como lógica consecuencia de la interacción entre éste y el ganado porcino criado al aire libre, la infección se está extendiendo de forma preocupante en el porcino ibérico (Muñoz et al. 2003). Además, recientes brotes ocurridos en explotaciones intensivas sugieren que la importancia de esta infección podría ser también de relevancia en el ciclo industrial.

No existe actualmente ninguna vacuna eficaz contra la brucelosis porcina. Por otra parte, en situaciones endémicas en las que el porcentaje de explotaciones y de animales infectados es muy alto (por ejemplo, una integradora) o en las que el contacto permanente con poblaciones infectadas de jabalí es inevitable (granjas de cría extensiva no cercadas convenientemente), la despoblación de todos los efectivos (medida propuesta por algunos para el control de la enfermedad) suele ser inviable. Por lo tanto, la única estrategia posible para minimizar el impacto de la enfermedad es la instauración de un tratamiento con antibióticos. Al no existir referencias específicas sobre la eficacia de los antibióticos frente a la brucelosis porcina, la información publicada para el tratamiento de la infección en otras especies animales y, sobre todo en la especie humana, es la única que puede ser usada como referencia. Es conocido que ningún antibiótico, por sí solo, logra la erradicación intracelular de *Brucella*. En consecuencia, para el tratamiento de la brucelosis se utilizan simultáneamente varios antibióticos con efecto sinérgico o aditivo, y administrados durante varias semanas para reducir en lo posible la aparición de recaídas. Tratamientos antibióticos a base de tetraciclinas (oxitetraciclina o doxiciclina, esencialmente) combinadas con aminoglucósidos (estreptomina o gentamicina) han dado buen resultado frente a la brucelosis en humanos (Ariza et al. 2007), vacas (Nicoletti et al. 1985), ovejas (Marín et al. 1989) y también en ratones (Grilló et al. 2006), por lo que dicha combinación podría resultar también efectiva en ganado porcino.

El objetivo de este trabajo es comparar la eficacia de un tratamiento prolongado con oxitetraciclina, administrada por vía oral, respecto a la obtenida combinando dicho tratamiento oral con gentamicina, administrada por vía parenteral, frente a la infección por *B. suis* biovar. 2 en cerdas.

MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó con 18 cerdas abortadas y procedentes de una explotación de cerdo industrial infectada naturalmente con *B. suis* biovar 2. La infección se confirmó individualmente en todas las cerdas mediante el aislamiento de la bacteria a partir de las secreciones vaginales tras el aborto. Las cerdas fueron repartidas aleatoriamente en dos lotes de 9 animales cada uno y todas recibieron diariamente pienso conteniendo 1800ppm de oxitetraciclina (20 mg/Kg de peso vivo, aproximadamente) durante los 45 días posteriores al aborto. Los animales de uno de los lotes, además, recibieron un tratamiento adicional de 4 gr (20 mg/Kg de peso vivo, aproximadamente) de gentamicina administrados diariamente por vía parenteral durante los últimos 15 días de tratamiento, procurando alternar diariamente el punto de inoculación de este antibiótico en ambas tablas cervicales.

Diez días después de recibir la última dosis de antibiótico, los animales de cada lote fueron sacrificados y de cada uno se tomaron muestras de los linfonodos de la cabeza, preescapulares, crurales, ilíacos y supramamarios, así como del bazo y útero. Las muestras de necropsia fueron desgrasadas, desinfectadas superficialmente, homogeneizadas en tampón salino fisiológico y cultivadas en 2 placas de los medios selectivos de Farrell (Farrell 1974) y CITA (de Miguel et al. 2011). Los crecimientos bacterianos fueron identificados como *B. suis* biovar. 2 utilizando las técnicas microbiológicas convencionales (Alton et al. 1988), así como una PCR múltiple para la identificación de biovariedades de *B. suis* (García-Yoldi 2008).

Se consideró que un animal estaba infectado cuando en alguna de sus muestras se aisló al menos 1 UFC de *B. suis*. Para la comparación estadística de la eficacia de ambos tratamientos se calculó la proporción de animales infectados respecto al total en cada lote y se aplicó el test de Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La totalidad de los animales tratados únicamente con oxitetraciclina (L1, Figura 1) se encontraron infectados, aislándose *B. suis* biovar. 2 en una o varias muestras. La bacteria se aisló principalmente en los linfonodos mamarios (100% de los casos) y cefálicos (44%). Por el contrario, todas las cerdas sometidas a tratamiento combinado de oxitetraciclina y gentamicina se encontraron curadas tras el mismo (L2 Figura 1).

La administración de oxitetraciclina por vía oral es el tratamiento más comúnmente utilizado en las explotaciones industriales de porcino afectadas por *B. suis*. Dicho tratamiento resulta parcialmente eficaz, puesto que, transcurridos varios meses del inicio de su aplicación, permite reducir el porcentaje de abortos y una mejora general de los niveles de fertilidad (resultados no publicados). Sin embargo, en todas las granjas sometidas a este tratamiento se observan recidivas muy importantes transcurridas pocas semanas después de la retirada del antibiótico (resultados no publicados). En perfecta sincronía con estos hallazgos clínicos, el aislamiento de *B. suis* en todos los animales sometidos al tratamiento con oxitetraciclina exclusivamente demuestra las limitaciones de dicho tratamiento, que probablemente reduce la carga bacteriana en animales infectados, pero que no resulta curativo en ningún caso. Por el contrario, los resultados obtenidos en el L2 mostraron la gran eficacia terapéutica ($P < 0.0001$) que supone la combinación de oxitetraciclina con gentamicina. La administración de este último antibiótico por vía parenteral no supuso ningún problema práctico y solo se observaron abscesos de carácter leve en el punto de inoculación en dos de los 9 animales tratados.

Otro resultado a destacar fue el aislamiento de la bacteria en los linfonodos mamarios de todas las cerdas infectadas. Es conocido que la infección por *Brucella* en los animales tiende a cronificarse en los ganglios mamarios, produciéndose una excreción intermitente de la bacteria a través de la leche (Thoen et al. 1986). Teniendo en cuenta que en los mataderos de porcino la retirada de la cadena mamaria se realiza de forma sistemática, ésta sería una muestra adecuada y de fácil obtención para el análisis bacteriológico en animales sospechosos de brucelosis.

Si bien lo ideal habría sido realizar un ensayo de tratamiento bajo condiciones experimentales estrictamente controladas y utilizando como control un lote de animales no tratados, esta experiencia de campo nos ha permitido concluir que la administración de oxitetraciclina en el pienso, no es totalmente efectiva frente a la infección por *B. suis* biovar. 2, mientras que la complementación de dicho tratamiento con gentamicina administrada por vía parenteral durante 15 días, permite eliminar la infección.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alton, G., Jones, L., Angus, R. & Verger, J. 1988. En: Techniques for the brucellosis laboratory. INRA. France
- Ariza, J., Bosilkovski, M., Cascio, A., Colmenero, J.D., Corbel, M.J., Falagas, M.E., Memish, Z.A., et al. 2007. Plos Medicine 4(12): 1872-1878.
- EFSA 2009 1144: 64-112.
- Farrell, I. D. 1974. Res. Vet. Sci. 16:280-286.
- García-Yoldi, D. 2008.

PHD thesis. • Garin-Bastuji, B., Hars, J., Calvez, D., Thiebaud, M. & Artois, M. 2000. *Epidemiologie et Sante Animale*. 38:1-5. • Godfroid, J. & Kasbohrer, A. 2002. *Vet. Microbiol.* 90:135-145. • Grilló, M.J., de Miguel, M.J., Muñoz, P.M., Marín, C.M., Ariza, J. & Blasco, J.M. 2006. *J. Antimicrob. Chemother.* 58 (3):622-626. • Marín, C.M., Jiménez de Bagués, M.P., Barberán, M. & Blasco, J.M. 1989. *AJVR* 50 (4):560-563. • Muñoz, P.M., Boadella, M. Arnal, M., de Miguel, M.J., Revilla, M., Martínez, D., Vicente, J., Acevedo, P., Oleaga, A., Ruiz-Fons, F., Marín, C., Prieto, J., de la Fuente, J., Barral, M., Barberán, M., de Luco, D., Blasco, J & Gortazar, C. 2010. *BMC Infect. Dis.* 10 (1):46. • Muñoz, P.M., de Miguel, M.J., Blasco, J & Marín, C. 2003. En: *X Jornadas sobre Producción Animal*:417-419. • Nicoletti, P., Milward, F.W., Hoffmann, E. & Altvater, L. 1985. *JAVMA* 187(5):493-495. • OIE 2009. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*:1108-1114. • Thoen, C.O. & Enright, M. 1986. En: *Brucella. Pathogenesis of bacterial infections in animals*. Ed. Gyles & Thoen. Ames, IA • De Miguel M.J., Marín, C.M., Muñoz, P.M., Dieste, L., Grilló, M.J. & Blasco, J.M. 2011. J.C.M.

Agradecimientos: A las explotaciones de porcino colaboradoras. Experiencia financiada por INIA (FAU2008-00015-C02-01), CYCIT (AGL2008-04514-C03-03/GAN) y Grupo Consolidado de Brucelosis.

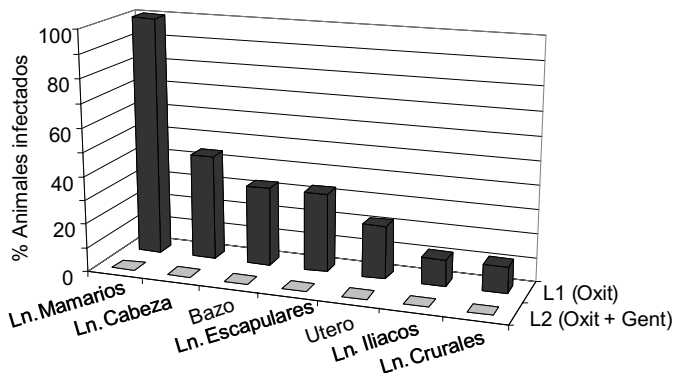


Figura 1 . Porcentaje de muestras infectadas por *B. suis* biovar. 2 de cerdas tratadas con monoterapia de oxitetraciclina (L1) o terapia combinada de oxitetraciclina y gentamicina (L2).

EFFICACY OF OXYTETRACYCLINE AND GENTAMICIN AGAINST BRUCELLA SUIS INFECTION IN PIGS.

ABSTRACT : Eighteen aborted sows naturally infected with *B. suis* biovar. 2 were allotted in two groups each of 9 animals. All sows were treated with oxytetracycline given in feed (20 mg/Kg BW daily) during 45 days after abortion, and the half of animals received a combined intramuscular treatment with gentamicin (4 g/day) during the last 15 days of treatment. Ten days after treatment, sows were slaughtered and several lymph nodes, uterus and spleen submitted to bacteriological studies. All animals treated with oxytetracycline alone were found infected in one or more necropsy samples. By contrast, 100% of the animals receiving the combined treatment with gentamicin were fully cured from infection. In conclusion, monotherapy with oxytetracycline is not effective enough against *B. suis* biovar. 2 infection in sows, while combining this treatment regime with gentamicin during 15 days is fully effective against infection.

Keywords : Swine Brucellosis, antibiotherapy, *Brucella suis* biovar 2, gentamicin.

INFECCIONES SIMULTÁNEAS POR CEPAS DE SALMONELLA DE DISTINTOS SEROTIPOS Y PATRONES DE MULTIRRESISTENCIA EN PORCINO DE MATADERO

Garrido, V.¹, San Román, B.¹, Vico, J.P.², Sánchez S.¹, Ciaurriz, P.¹, De Frutos C.³, Mainar-Jaime, R.C.², Grilló, M.J.^{1*}

¹Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-UPNA-Gobierno de Navarra). Carretera de Mutilva, s/n. 31192. Mutilva, Navarra. ²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón. Avda. Montañana, 930. 50059. Zaragoza. ³Laboratorio Central de Veterinaria. Ctra. de Algete, Km 8. 28110. Algete, Madrid. *E-mail: mariajesus.grillo@unavarra.es

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis humana es la primera causa de mortalidad por infecciones alimentarias en la Unión Europea (EFSA, 2009). La ingestión de carne y productos derivados del cerdo es la segunda fuente de infección más importante para el ser humano, siendo *Salmonella enterica* subespecie enterica serovariedad Typhimurium (*S. Typhimurium*) el serotipo más frecuentemente asociado a estos brotes. Las infecciones humanas cursan con síntomas de gastroenteritis aguda que, generalmente, remiten en pocos días tras el tratamiento sintomático inicial (hidratación). No obstante, en los casos más severos o los que conllevan complicaciones subsiguientes a la infección es necesario aplicar terapias antimicrobianas, por lo que un riesgo adicional es la aparición de cepas con resistencia a los agentes antimicrobianos (AR). La legislación actual exige el aislamiento, serotipado y estudio de los perfiles de AR, tanto de las cepas causantes de brotes de salmonelosis humana como de las cepas que infectan a los animales (EFSA, 2009). Con el ánimo de proteger la salud de los consumidores, las autoridades sanitarias de la Unión Europea han iniciado estudios encaminados a estimar la prevalencia de salmonelosis porcina en cada Estado Miembro (EM) e identificar los serotipos y perfiles de AR de *Salmonella* más frecuentes (EFSA, 2008a; EFSA, 2008b). El objetivo final de estos estudios es definir objetivos de reducción de prevalencia de salmonelosis porcina para cada EM y contribuir al establecimiento en Europa de programas de control razonables. La prevalencia e identificación de serotipos de *Salmonella* se basan en el cultivo de ganglios linfáticos mesentéricos (GLM) según los procedimientos descritos en la norma ISO 6579:2002 (ISO, 2005) y el Esquema de Kauffmann-White, y el análisis de los perfiles de AR, según los descritos en los estándares internacionales (CLSI/NCCLS, 2005). Los estudios realizados por la EFSA no han analizado la existencia de animales infectados simultáneamente por varias cepas de *Salmonella*. Para averiguar si este fenómeno ocurre en el porcino de engorde, hemos analizado los serotipos y AR de varias colonias de *Salmonella* spp. aisladas de GLM de un mismo animal, en un total de 14 cerdos de engorde sacrificados en Aragón, entre los años 2008 y 2009 (Vico et al., 2011).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se aisló *Salmonella* spp. en muestras de GLM (25 gramos/animal) de un total de 14 cerdos de engorde sacrificados en diferentes mataderos de Aragón, entre los años 2008 y 2009, siguiendo la norma ISO 6579:2002 (ISO, 2005). Brevemente, las muestras de GLM fueron cultivadas en agua de peptona tamponada (BPW), transferidas a medio semi-sólido Rappaport-Vassiliadis (RPVM) y los cultivos que presentaban el halo típico de *Salmonella* en este medio fueron transferidos a los medios selectivos XLD (Xylosine Lysine Deoxycholate) y BGA (Brilliant Green Agar). De ahí, se repicaron entre 2 y 12 (cuando fue posible) colonias sospechosas de *Salmonella* de cada animal en placas de agar y, tras su identificación bioquímica (urea-indol, lisina-decarboxilasa y TSI) y molecular (amplificación por PCR de los genes *invA* y *hila*), fueron serotipadas en el Centro Nacional de Referencia de Salmonelosis Animales (LCV Algete, Madrid). Una vez confirmados los serotipos, se analizaron los perfiles de AR de cada cepa, utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer (CLSI/NCCLS, 2005) con un total de 19 agentes antimicrobianos: los 10 recomendados por la normativa europea para la vigilancia armonizada de salmonelosis animales (DOUE, 2007) (i.e., Ampicilina, Amp; Cloranfenicol, Clor; Estreptomina, Str; Gentamicina, Genta; Sulfisoxazol, Sul; Trimetoprima, Tm; Tetraciclina, Tet; Ácido nalidíxico, Nx; Ciprofloxacino, Cip; y Cefotaxima, Cfx); otros 8 antibióticos utilizados durante el engorde de los animales analizados (i.e., Amoxicilina, Amx; Espectinomina, Spt; Neomicina, Neo; Doxiciclina, Doxi;

Enrofloxacin, En; Ceftiofur, Cft; y Colistina, Col); y las asociaciones Amoxicilina-Clavulánico (AmC) y Trimetoprima-Sulfometoxazol (Ts). Las concentraciones utilizadas de cada antimicrobiano y la clasificación de las cepas de *Salmonella* como resistentes, intermedias y sensibles fueron las recomendadas por los estándares internacionales (CLSI/NCCLS, 2005). Como controles se utilizaron *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028 y *S. Typhimurium* DT104. Los perfiles de multi-AR se determinaron según la clasificación por familias de los antimicrobianos utilizados en veterinaria (OIE, 2009), i.e., Aminopenicilinas (A; Amp, Amx y AmC), Anfencólicos (C; Clor), Aminonoglucósidos (S; Str, Spt, Genta y Neo), Sulfonamidas (Su; Sul, Tm y Ts), Tetraciclinas (T; Tet y Dox), Quinolonas (Q1G; Nx), Fluoro-Quinolonas (FQ; Cip y Enro), Cefalosporinas 3G (C3G; Cfx y Cft) y Polipéptidos (Px; Col).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los 14 animales analizados, se aislaron un total de 58 cepas de *Salmonella* spp. pertenecientes a 8 serotipos de 5 serogrupos diferentes, i.e., *S. Typhimurium*, *S. Derby* y *S. Bredeney* del serogrupo B; *S. Rissen* y *S. 6,7 : - : 1-5 (I)* del serogrupo C1; *S. Goldcoast* del serogrupo C2; *S. Kapemba* del serogrupo D1; y *S. arizonae* serotipo 48:z₄,z₂₃,z₃₂ :- (IIIa) del serogrupo Y). Los serotipos más aislados fueron *S. Typhimurium* (18 cepas), *S. Rissen* (14 cepas) y *S. Kapemba* (14 cepas). La mitad de los animales estaban infectados simultáneamente por cepas pertenecientes a 2 o más serotipos de *Salmonella*, encontrándose *S. Typhimurium* junto con *S. Kapemba*, *S. Goldcoast*, *S. Rissen* ó *S. 6,7 : - : 1-5 (I)*, *S. Rissen* junto con *S. arizonae* e incluso se halló un animal infectado por 3 serotipos de 3 serogrupos (*S. Typhimurium*, *S. Kapemba* y *S. arizonae*) simultáneamente.

Por otra parte, el 95% (55 de 58) de las cepas aisladas fueron resistentes a algún antimicrobiano, siendo Sul (49 cepas), Str (46 cepas), Spt y Tet (41 cepas) los agentes frente a los que más AR se observaron. Además, 50 (86,2%) de estas cepas presentaron AR a varios agentes, mostrando 11 perfiles de multi-AR diferentes, entre los que destacaron ACSSuT (14 cepas, 3 de ellas con AR adicional a Q1G), CSSuT (14 cepas) y ASSu (8 cepas). La mayoría (11 de 14; 78,6%) de los animales analizados estaban infectados simultáneamente por cepas de *Salmonella* spp. con 2 o más patrones de AR, coexistiendo en un mismo animal cepas multi-AR con diferentes patrones (5 animales) o con cepas susceptibles a todos (3 animales) o resistentes sólo a uno (3 animales) de los antibióticos analizados. Asimismo, encontramos que el 50% (7 de 14) de los animales analizados estaban infectados por cepas de *S. Typhimurium* con el patrón típico ACSSuT, acompañado o no de AR a Q1G. Observamos que *S. Typhimurium* (19 cepas) y *S. Kapemba* (5 cepas) fueron los serotipos que presentaron AR a mayor número de agentes (5 y 4 familias de antimicrobianos, respectivamente), mientras que *S. Derby* (5 cepas) y *S. Rissen* (15 cepas) sólo presentaron AR a 3 o menos familias. Para los demás serotipos aislados no se analizó si esta relación con el número de AR puesto que sólo se aislaron 1 ó 2 cepas de cada serotipo.

Hasta donde sabemos, es la primera vez que se describe la existencia de infecciones simultáneas por cepas de *Salmonella* de dos o más serotipos y/o patrones de AR en ganado porcino. Esto puede ser debido a que, por motivos prácticos, en los estudios de prevalencia de salmonelosis en animales suele analizarse una sola colonia de *Salmonella* de cada individuo. Desde un punto de vista epidemiológico, este hallazgo podría explicar las diferencias entre los serotipos identificados en los estudios de referencia de diferentes países y modificar sustancialmente algunos de los resultados relativos a los serotipos y perfiles de AR de las cepas de origen porcino que pueden causar brotes de salmonelosis humana. Por ejemplo, aunque *S. Typhimurium* y *S. Rissen* fueron los más prevalentes tanto en este estudio como en el estudio de referencia llevado a cabo en Aragón (Vico et al., 2011), aquí hemos detectado *S. Kapemba* en 3 (21,4 %) de los 14 animales analizados, mientras que en el estudio de referencia se identificó en sólo 11 (1,8%) de los 625 animales analizados. Además, la existencia de infecciones múltiples podría explicar la gran variabilidad de serotipos encontrados en una misma granja (en el 73,3% de las granjas de Aragón estudiadas durante el mismo periodo se identificaron más de 4 serotipos) y también indicar que el número de serotipos y cepas con AR de origen porcino que podrían causar salmonelosis humana es mayor que lo descrito.

Por otra parte, la existencia de infecciones múltiples por cepas del mismo serotipo con diferentes perfiles de AR sugiere la transferencia horizontal de material genético entre bacterias, facilitado por la existencia de plásmidos, transposones, integrones e islas genómicas (Miriagou et al., 2006; Mulvey et al., 2006). Sin embargo, la existencia de infecciones simultáneas por diferentes serotipos de Salmonella en un mismo animal sugiere la existencia de reinfecciones y/o múltiples fuentes de infección. Curiosamente, todos los casos de coinfecciones por cepas de distinto serotipo estaban producidas por cepas pertenecientes a diferentes serogrupos. Desde un punto de vista inmunológico, esto podría indicar la existencia en Salmonella de una protección específica de serogrupo frente a la reinfección. En caso de confirmarse este aspecto con experimentación adicional, sugeriría la necesidad de desarrollar vacunas polivalentes con antígenos de múltiples serogrupos para conferir una protección eficaz frente a las infecciones por Salmonella.

En conclusión, el porcino destinado a consumo humano puede estar infectado simultáneamente por cepas de Salmonella pertenecientes a diferentes serotipos y/o perfiles de AR, siendo lo más frecuente la presencia de cepas multi-AR.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLSI/NCCLS. 2005. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 7th. ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- DOUE. 2007. Decisión de la Comisión de 12 de junio de 2007 sobre la vigilancia armonizada de la resistencia a los antimicrobianos en Salmonella en aves de corral y cerdos. Diario Oficial de la Unión Europea C(2007) 2421.
- EFSAa. 2008. Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs. Part A. EFSA J. 135:1-111.
- EFSAb. 2008. Report of the task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs. Part B. EFSA J. 206:1-111.
- EFSA. 2009. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. EFSA J 223: 1-312.
- ISO. 2005. International Organisation for Standardisation. ISO 6579:2002/DAM. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Detection of Salmonella spp. Annex D: Detection of Salmonella spp. in Animal Faeces and in Samples from the Primary Production Stage. Geneve, Suiza.
- Miriagou, V., Carattoli, A. & Fanning, S. 2006. Microbes Infect 8: 1923-1930.
- Mulvey, M.R., Boyd, D.A., Olson, A.B., Doublet, B. & Cloeckaert, A. 2006. Microbes Infect 8: 1915-1922.
- OIE, 2009, Terrestrial Manual Part 3. 2009. 12 rue de Prony 75017 Paris, France. http://www.oie.int/download/Antimicrobials/OIE_list_antimicrobials.pdf.
- Vico, J.P., Rol, I., Garrido, V., San Román, Grilló, M.J. & Mainar-Jaime, R.C. 2011. J Food Protect (2011, in press).

Agradecimientos: Trabajo de investigación cofinanciado por el Gobierno de Navarra (proyecto IIQ14064.R11) y el INIA (RTA2007-00065-00-00). Becas de P.C. y S.S., financiadas por el CSIC (JAE-Intro) y el programa Erasmus Mundus 18, respectivamente.

SIMULTANEOUS INFECTION BY SALMONELLA STRAINS OF DIFFERENT SEROTYPES AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE PATTERNS IN FINISHING PIGS

ABSTRACT: Salmonella is recognized as a major zoonotic disease, being finishing pigs one of the main sources of infection. Several colonies (2-12, when possible) of Salmonella spp. isolated from mesenteric lymph nodes cultures of each finishing pig were characterized for serotype and antimicrobial resistance (AR) against 19 agents. A total of 58 strains, belonging to 8 serotypes of 5 serogroups, and showing 11 different patterns of multi-AR were isolated. Most of the animals were infected simultaneously by 2 or 3 strains of Salmonella showing different serogroup and/or AR pattern. The 95% of strains analysed were resistant to at least one agent, showing most of them multi-AR to ACSSuT, CSSuT, CSSuT and ASSu family agents. S. Typhimurium and S. Kapemba were the serotypes showing AR against higher number of agents. To our knowledge, this is the first report on simultaneous infection by different Salmonella serotype and AR pattern strains in pigs, a finding that could have epidemiological and immunological relevance.

Keywords: Salmonella, finishing pigs, serotypes, antimicrobial resistance.

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE CUATRO PCRs PARA LA DETECCIÓN DE SALMONELLA EN GANGLIOS LINFÁTICOS PORCINOS

Sánchez, S.¹, San Román, B.¹, Garrido, V.¹, Abuelo, A.¹, Asensio, A.C.¹, Vico, J.P.², Mainar-Jaime, R.C.², Grilló, M.J.^{1*}

¹Instituto de Agrobiotecnología (CSIC-Universidad Pública de Navarra-Gobierno de Navarra). Campus de Arrosadía. 31006. Pamplona.

²Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Aragón. Avda. Montañana, 930. 50059. Zaragoza. E-mail: mariajesus.grillo@navarra.es

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis es una de las principales zoonosis extendida, con 21 millones de casos registrados y más de 600.000 muertes por año. En Europa, está reconocida como la segunda zoonosis más frecuente en número de casos, sólo superada por la campilobacteriosis, y la principal causa de mortalidad debida a infecciones de origen alimentario (EFSA 2009). El porcino infectado de forma subclínica y sus productos derivados están estrechamente asociados a los casos de gastroenteritis aguda por *Salmonella*. Por ello, las autoridades sanitarias de la Unión Europea, a través de la Directiva 2003/99/CE sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos (DOUE 2003) y del Reglamento (CE) N° 2160/2003 sobre el control de la *Salmonella* y otros agentes zoonóticos específicos transmitidos por los alimentos (DOUE 2007), han iniciado programas de control de la salmonelosis porcina que contemplan la realización de estudios de prevalencia en animales de matadero, mediante cultivo microbiológico de ganglios linfáticos mesentéricos (GLM), siguiendo la norma ISO 6579 (ISO 2005). Este método presenta ciertos inconvenientes (lento, caro, laborioso, gran manipulación del patógeno, complejidad técnica y baja sensibilidad) que recomiendan el desarrollo de nuevas herramientas de diagnóstico. Para ello, se han propuesto diversos procedimientos de diagnóstico molecular, con resultados discrepantes, por lo que no existe un método molecular con suficiente sensibilidad y especificidad para ser recomendado como método de referencia (Levin 2009). El objetivo de este estudio fue desarrollar y evaluar la utilidad de nuevas PCRs con respecto al cultivo recomendado en la norma ISO 6579, para muestras de GLM porcinos, como técnica alternativa o complementaria ("screening") al cultivo microbiológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el desarrollo de las PCRs, se seleccionaron 4 genes, 2 cromosómicos (A y B) y 2 plasmídicos (C y D) altamente conservados en *Salmonella* spp. y se diseñaron cebadores específicos para cada gen. Los genes amplificados, cebadores utilizados y otros detalles sobre las PCRs utilizadas no se describen por formar parte de un estudio sometido a patentabilidad. Tras comprobar el correcto funcionamiento de los cebadores con las cepas de referencia *S. Typhimurium* 14028 (STM) y *S. Enteritidis* 3934 (SE), se fijaron las condiciones óptimas de PCR, a partir de alícuotas de 1 mL de suspensiones bacterianas preparadas en PBS o en agua de peptona tamponada (BPW), que contenían entre 10^{10} y <4 UFC/mL, en diluciones decimales realizadas en el mismo diluyente. Las suspensiones de STM y SE preparadas en BPW fueron incubadas a 37°C, durante 24 horas, para determinar en paralelo el crecimiento in vitro de *Salmonella* (UFC/mL) en este medio y el límite de detección (LD) de las PCRs. Además, se analizó la especificidad de las 4 PCRs frente a una colección de 38 cepas de 22 especies bacterianas aisladas como microbiota acompañante habitual junto a *Salmonella* spp. por el método ISO 6579 (ISO 2005). A continuación, se analizó la utilidad de las 4 PCRs para detectar 132 cepas pertenecientes a 37 serotipos de *Salmonella* (50 cepas *S. Typhimurium*, 21 de su variante monofásica *S. 4,12:i:-*, 17 *S. Rissen*, 10 *S. Enteritidis*, 2 *S. arizonae* y 1 cepa de los restantes 32 serotipos menos frecuentes) aisladas de ganglios linfáticos mesentéricos (GLM) de porcino de engorde de Aragón (Vico et al. 2011). Para ello, se utilizaron suspensiones con 10^7 UFC/mL de cada cepa en PBS, se extrajo DNA total a partir de 1 mL de suspensión (Oliveira et al 2005), se cuantificó el DNA obtenido por espectrofotometría a 260 nm y los productos de PCR

amplificados se revelaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% teñido con bromuro de etidio (0,4 µg/mL). Finalmente, se determinó la sensibilidad (Se) y especificidad (Es) de cada PCR y de las 4 PCRs consideradas conjuntamente, para detectar *Salmonella* spp. en 320 muestras de GLM porcinos cultivadas (37°C, 24 h) en BPW, con respecto a los resultados (107 muestras positivas y 213 negativas) obtenidos con el método ISO. Para el estudio bacteriológico de los casos discordantes (muestras PCR+ e ISO-), se realizó un segundo enriquecimiento (37°C, 24 horas) en BPW (1:10) de alícuotas de 1 mL de cada muestra conservadas a -20°C, seguido de los procedimientos bacteriológicos del método ISO 6579.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En condiciones de laboratorio, las 4 PCRs detectaron entre 10^3 y 10^9 UFC/mL de las cepas STM y SE preparadas tanto en PBS como en BPW. El enriquecimiento en BPW, permitió detectar *Salmonella* tras 6 horas de incubación a 37°C en las muestras que inicialmente contenían <4 UFC/mL (indetectables por microbiología), por lo que el LD de la técnica puede considerarse adecuado. Por otra parte, ninguna de las PCRs desarrolladas amplificó los fragmentos de DNA esperados con las 38 cepas de contaminantes analizadas, si bien algunas de ellas mostraron bandas de DNA de tamaño mucho mayor.

Cuando se analizaron las 132 cepas de 37 serotipos de *Salmonella*, las PCRs de los genes A y B detectaron mayor número de cepas (131 -99,2%- y 129 -97,7%-, respectivamente) que las de los genes C (95 cepas; 72%) y D (71 cepas; 53,8%), sin observarse un efecto debido al serotipo.

Con cultivos de GLM porcinos en BPW, la PCR para el gen A detectó 101 de las 107 muestras detectadas por el método ISO, una Sensibilidad Relativa (SeR) del 94,4% (IC95%=90%-98,7%), mientras que la SeR de las PCRs para los genes B, C y D fue tan sólo del 61,7% (IC95%=52,5%-70,9%), 63,6% (IC95%=54,4%-72,7%) y 58,9% (IC95%=49,6%-68,2%), respectivamente. Sin embargo, la combinación de las 4 PCRs mostró una Se del 97,2% (IC95%=94,1%-100%) mejorando significativamente ($p < 0,0001$) la utilidad diagnóstica de las PCRs B, C y D individuales. Dicha combinación permitió detectar *Salmonella* no sólo en 104 de las 107 muestras ISO+ sino también en otras 26 muestras que habían resultado negativas en el cultivo ISO. Para determinar si se trataba de falsos positivos de las PCRs, se realizó un segundo enriquecimiento en BPW de las 26 muestras discordantes (PCR+, ISO-). A pesar del pequeño volumen analizado (1 mL) y que la congelación de las muestras se había realizado sin crioprotectores, se aisló *Salmonella* en 17 de las 26 (65,4%) muestras analizadas, indicando una mayor SeR (97,6%; IC95%=94,9%-100%) que el cultivo ISO (95,4%) y sugiriendo que la sensibilidad diagnóstica general de las PCRs combinadas era superior a la del cultivo ISO.

En conclusión, la combinación de las 4 PCRs descritas puede resultar de gran utilidad como método de screening en muestras de GLM dada su mejor sensibilidad diagnóstica comparada con el cultivo según la norma ISO 6579. Además, puede ser utilizado en estudios epidemiológicos para la identificación de animales infectados, de una forma rápida (dentro de una jornada laboral), sencilla, efectiva y con mínima manipulación de la muestra.

Tabla 1. Detección de *Salmonella* (número de muestras) en GLM porcinos cultivados en BPW, mediante la combinación de las 4 PCRs descritas (PCR) frente al cultivo microbiológico descrito en la norma ISO 6579 (ISO; tabla izquierda) o tras un segundo cultivo bacteriológico (2° C; tabla derecha).

	ISO +	ISO -		2° C +	2° C -	
PCR +	104	26	130	121	9	130
PCR -	3	187	190	3	187	190
	107	213	320	124	196	320

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOUE (2003a) Directiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 17 de noviembre de 2003, sobre la vigilancia de las zoonosis y los agentes zoonóticos y por la que se modifica la Decisión 90/424/CEE del Consejo y se deroga la Directiva 92/117/CEE del Consejo. [WWW document]. URL <http://www.boe.es/doue/2003/325/L00031-00040.pdf>The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. EFSA J 223: 1-312.
- ISO. 2005. International Organisation for Standardisation. ISO 6579:2002/DAM. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Method for the Detection of Salmonella spp. Annex D. Geneve, Suiza.
- Levin, R.E. 2009. Review. Food Biotech, 23(4):313-367.
- Oliveira, C.J.B., Oliveira, L.F., Carvalho, S. & Naves, P.E. 2005. Rev. Port. Ciencias Vet. 100: 193-198.
- Vico, J.P., Rol, I., Garrido, V., San Román, Grilló, M.J. & Mainar-Jaime, R.C. 2011. J Food Protect (2011, in press).

Agradecimientos: El trabajo ha sido financiado por Gobierno de Navarra (proyectos IIM10841.R11-EP11 y IIQ14064.R11) e INIA (RTA2007-00065-00-00). Las becas de S.S. y A.A han sido financiadas por el programa Erasmus Mundus 18 y el CSIC (JAE-Intro), respectivamente.

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF COMBINED PCRs FOR DETECTING SALMONELLA IN SWINE LYMPH NODES

ABSTRACT: Salmonellosis is one of the major zoonoses worldwide extended, frequently transmitted by subclinically infected pigs. Thus, EU health authorities have initiated salmonellosis control programs including prevalence studies in pigs by microbiological culture of lymph nodes (LN) following the ISO 6579 method. This method has some disadvantages that recommend the development of new diagnostic tools. The aim of this study was to develop and evaluate the usefulness of new PCRs for detecting Salmonella in LN pig samples, by amplifying 2 chromosomal (A and B) and 2 plasmidic (C and D) genes highly conserved in Salmonella. These PCRs were evaluated (i) in lab conditions; (ii) against 38 contaminants; (iii) against 132 Salmonella strains of 37 serotypes; and (iv) with 320 swine LN samples. Results shown that: (i) the four PCRs were specific for Salmonella; (ii) PCR-A and PCR-B had more sensitivity than PCR-C and PCR-D, unrelated to the serotype; (iii) PCR-A showed 94.4% SeR vs. the ISO method, while it was below 63.6% for the other genes; and (iv) best results of SeR was obtained by considering the 4 PCRs jointly, allowing to detect Salmonella in 26 ISO- samples, 17 (65.4%) of which resulted positive after a second culture. In conclusion, the combined PCRs showed higher diagnostic sensitivity, indicating its usefulness as a complementary or alternative method to the ISO.

Keywords: Salmonella, Swine, Lymph nodes, Diagnosis, Sensitivity.

RELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE D Y L LACTATO Y EL ESTRÉS OXIDATIVO EN VACUNO LECHERO EN FASE DE TRANSICIÓN: OBSERVACIONES PRELIMINARES

Abuelo, A*., Castillo, C., Hernández, J., Pereira, V., García-Vaquero, M.A., López-Alonso, M., Benedito, J.L.

Dpto. de Patología Animal, Universidad de Santiago de Compostela. Campus Universitario s/n, 27002 – Lugo (Lugo). *E-mail: angel.abuelo@rai.usc.es

INTRODUCCIÓN

Grummer (1995) describió el período de transición como el período comprendido desde las 3 semanas preparto hasta las 3 semanas postparto. Este período se caracteriza por los marcados cambios en el estado endocrino del animal, que son mucho más dramáticos que en cualquier otro momento del ciclo lactación-gestación; y por la reducción de la capacidad de ingesta cuando se incrementa la demanda de nutrientes para el desarrollo de la concepción y la inminente lactogénesis (Grummer, 1995). En adición a los cambios endocrinos, metabólicos y del sistema inmune experimentados por las vacas en transición, éstas también tienen que soportar frecuentemente estresores ambientales surgidos de los cambios de grupos (de vacas lactantes y en período de secado) asociados con el manejo de las granjas lecheras. Cuando se combinan todos estos efectos con los esfuerzos del parto, no es sorprendente que el período de mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades sea el período inmediatamente siguiente al parto.

Una de las enfermedades más frecuentes en el postparto es la acidosis ruminal, si bien en muchas ocasiones se presenta en su forma subaguda y pasa desapercibida para los ganaderos, a pesar de las pérdidas económicas que ocasiona (disminución de la ingesta, disminución de la producción láctea, disminución de la concentración de proteína y grasa en la leche...) y de los perjuicios en la salud del animal (formación de abscesos hepáticos, inducción de laminitis, disbiosis ruminal...). En los rumiantes el lactato es uno de los productos secundarios de la fermentación de los carbohidratos, y su sobreproducción es la que provoca la caída brusca del pH ruminal. El L-lactato es metabolizado a piruvato en el hígado y eliminado vía renal de forma rápida, por lo que no tiende a acumularse. Sin embargo, la forma D-lactato se metaboliza muy lentamente y no se elimina de manera tan fácil, con lo que puede alcanzar niveles sanguíneos que dan lugar a una acidosis metabólica (Gentile et al., 2002) y a lesiones neurotóxicas a nivel del sistema nervioso central, debido a que este isómero es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica (Gentile et al., 2004). La determinación de D- y L-lactato en sangre reviste gran interés a la hora de obtener una evaluación general del estado de salud del animal en casos de acidosis ruminal, pues se ha encontrado que guardan una estrecha correlación con sus respectivos isómeros a nivel ruminal (Montaño et al., 1999).

El estrés oxidativo se define como el desequilibrio existente entre los niveles de sustancias oxidantes y reductoras (o antioxidantes) a nivel celular o de individuo. El daño oxidativo es un resultado de este desequilibrio e incluye la modificación oxidativa de macromoléculas celulares, muerte celular por apoptosis o necrosis, así como daño tisular estructural. El considerable aumento de los requerimientos de oxígeno durante momentos de demandas metabólicas incrementadas resulta en un incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS del inglés Reactive Oxygen Species). Un desequilibrio entre el incremento de producción de ERO y la disponibilidad de las defensas antioxidantes necesarias para reducir la acumulación de ERO durante el período del periparto puede exponer a las vacas a un mayor estrés oxidativo. Los primeros estudios sugerían el papel del estrés oxidativo en las etiologías de los desórdenes del ganado vacuno lechero, dado que la suplementación con ciertos antioxidantes podía mejorar la severidad de una variedad de enfermedades metabólicas e infecciosas (Miller et al., 1993). Estudios más recientes apoyan el concepto de que el estrés oxidativo es un factor a tener en cuenta en respuestas inmunes e inflamatorias no funcionales, lo que puede incrementar la susceptibilidad del ganado vacuno lechero a una variedad de desórdenes de la salud, particularmente durante el estado de transición (Bernabucci et al., 2005; Castillo et al., 2005; Mulligan y Doherty, 2008).

Por ello, el objetivo del presente estudio es valorar y relacionar, en condiciones de campo, el grado de estrés oxidativo con la función ruminal en ganado vacuno lechero en fase de transición.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el presente estudio se emplearon 62 animales de una explotación de régimen intensivo situada en el ayuntamiento de Arzúa (A Coruña - España). Se establecieron dos grupos, el primero de ellos (denominado experimental) estaba formado por vacas en gestación avanzada y fue muestreado desde el mes antes del parto hasta el mes después del mismo (EXP, n=17). Para analizar los valores obtenidos en función del estado productivo, este grupo experimental se dividió a su vez en 2 subgrupos: i) parto (desde 1 mes antes del parto hasta el día del parto) y ii) postparto (desde el parto hasta 1 mes después). El segundo grupo (denominado control) estaba formado por 40 vacas gestantes y en lactación, pero con una menor demanda metabólica, esto es, vacas con aproximadamente unos siete meses de lactación, con una producción media de 18 kg leche/animal/día, coincidiendo con el cuarto o quinto mes de gestación (120-150 días desde la IA fecundante) (CTRL, n=40).

Se obtuvieron muestras de sangre mediante venopunción coccígea cada 15 días. Las muestras fueron refrigeradas hasta su traslado al laboratorio y en este fueron centrifugadas a 2500 rpm y el suero fue congelado a -20°C hasta su posterior análisis. Se determinaron los niveles de metabolitos reactivos de oxígeno (d-ROM) y de la barrera plasmática a la oxidación (OXY) mediante un kit comercial suministrado por Diacron Internacional S.a.S. (Italia); a su vez, los niveles de ácido D- y L-láctico fueron determinados empleando kits comerciales de los laboratorios BEN-Biochemical Enterprise® (Italia) y Spinreact® (España) respectivamente. El análisis estadístico fue realizado con el paquete PASW Statistics 18 para Windows. Tras comprobar que los datos seguían una distribución normal, mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov, las diferencias entre medias se establecieron con el Test T-Student y la significación estadística se declaró con un valor de $p \leq 0,05$. Asimismo, las relaciones entre los distintos parámetros, en cada momento productivo concreto, se obtuvieron aplicando el coeficiente de correlación de Pearson.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores medios de los enantiómeros del ácido láctico se encontraban dentro de los rangos fisiológicos publicados (Carlson, 2010), no habiendo, en conocimiento de los autores, rangos fisiológicos publicados de los niveles de d-ROM y OXY.

En las fases productivas estudiadas, sólo se encontraron niveles de D-Lactato con diferencias estadísticas entre el grupo EXP y el CTRL, no habiendo diferencias significativas en los niveles de los parámetros estudiados en los subgrupos parto y postparto.

Se encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre los niveles de ambos enantiómeros del lactato tanto en el parto como en el postparto ($r=0.548$ y $r=0.462$ respectivamente). Teniendo en cuenta que los niveles de estos enantiómeros en suero guardan relación con los del rumen (Montaño et al., 1999), y que en éste se producen ambos a consecuencia de las fermentaciones ruminales, se entiende que las concentraciones séricas de ambas formas guarden una relación.

Además, se encontró en el parto una correlación significativa entre los niveles de D-Lactato y los de los metabolitos reactivos de oxígeno ($r=0.510$). Y en el postparto los niveles de L-Lactato guardan una correlación con la defensa antioxidante ($r=0.553$). Las diferencias en las relaciones de ambos enantiómeros pueden ser debidas a su metabolización en el organismo, ya que el L-Lactato se hidrogena rápidamente por la enzima lactato deshidrogenasa (L-LDH) para formar piruvato, que es un antioxidante natural (Das, 2006a; 2006b), de ahí su relación con los antioxidantes. En cambio, los mamíferos carecen de la enzima D-lactatodeshidrogenasa, por lo que el D-Lactato se metaboliza muy lentamente y no se elimina con facilidad, acumulándose y produciendo reacciones que causan un incremento de los ROM. Este es el primer estudio en el que se busca establecer la relación existente entre los niveles de D y L lactato – como biomarcadores de la función ruminal - y el

balance oxidante/antioxidante en fase de transición. Los primeros resultados nos permiten señalar que esta relación, efectivamente existe, aunque con funciones distintas: prooxidante para el D-lactato y antioxidante en el caso de L-lactato. Los siguientes estudios estarán encaminados a perfilar el papel de cada enantiómero sobre todo, en el contexto clínico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N., Nardone, A., 2005. *J. Dairy Sci.* 88, 2017-2026. ● Carlston, G.P., 2010, en *Medicina Interna de Grandes Animales*, Ed. Bradford P. Smith; Barcelona, Elsevier ● Castillo, C., Hernandez, J., Bravo, A., Lopez-Alonso, M., Pereira, V., Benedito, J.L., 2005. *Vet. Journal* 169, 286-292 ● Das, U.N., 2006a, *Nutrition* 22, 965-972.; 2006b, *Med Sci Monit* 12, RA79-84 ● Gentile, A., Sconza, S., Lorenz, I., Otranto, G., Rademacher, G., Famigli-Bergamini, P., Klee, W., 2002. XXII World Buiatrics Congress ● Gentile, A., Sconza, S., Lorenz, I., Otranto, G., Rademacher, G., Famigli-Bergamini, P., Klee, W., 2004. *Journal of Veterinary Medicine Series A* 51, 64-70, ● Grummer, R.R., 1995. *J. Anim. Sci.* 73, 2820-2833 ● Miller, J.K., Brzezinska-Slebodzinska, E., Madsen, F.C., 1993, *J. Dairy Sci.* 76, 2812-2823 ● Montaña, M.F., Chai, W., Zinn-Ware, T.E., Zinn, R.A., 1999. *J. Anim. Sci.* 77, 780-784. ● Mulligan y Doherty, 2008. *Vet. Journal* 176, 3-9.

Agradecimientos: Este estudio ha sido financiado con un proyecto de investigación de la Xunta de Galicia (Ref. 10MRU261004PR). Los autores agradecen a Lucía Casanova Iglesias su experiencia técnica.

Tabla 1: Niveles medios de d-ROM, OXY, D- y L-Lactato en cada una de las fases

PARÁMETRO	UNIDAD	Grupo Control	Grupo Experimental	
			Preparto (N = 19)	Postparto (N =17)
d-ROM	Carr U	135,57 ± 6,07	129,82 ± 8,61	152,99 ± 10,48
OXY	$\mu\text{mol HClO/mL}$	480,05 ± 20,58	516,85 ± 18,99	489,80 ± 31,78
D-Lactato	mmol/L	0,77 ± 0,03	0,58 ^a ± 0,05	0,56 ^a ± 0,04
L-Lactato	mmol/L	0,31 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,33 ± 0,03

^a. Diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control.

RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVELS OF D AND L LACTATE AND THE OXIDATIVE STATUS IN DAIRY CATTLE IN THE TRANSITION PERIOD: PRELIMINARY OBSERVATIONS

ABSTRACT: The transition period (3 weeks pre-calving until 3 weeks post-calving) is characterised by marked changes in the endocrine status of the animal that are much more dramatic than at any other time in the lactation-gestation cycle. The aim of this report was to evaluate, under field conditions, the relationship between the oxidative status and the levels of D and L Lactate during this period. We found a relationship between the levels of both enantiomers of the lactic acid in all the study period, as well as between the oxidants agents and the D-Lactate in the prepartum and between the antioxidant barrier and the L-Lactate during the postpartum.

Keywords: oxidative status, D- and L-lactate, dairy cow, transition period

HIPERQUERATOSIS DEL PEZÓN EN VACAS LECHERAS Y SUS EFECTOS

Cerqueira, J.O.L.^{1,2*}; Araújo, J.P.¹; Cunha, J.P.S.¹; Martins, A.³; Cantalapedra, J.⁴; Sorensen, J.T.⁵; Niza Ribeiro, J.^{2,6}

¹ Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Refóios do Lima, 4990-706 Ponte de Lima, Portugal. ² Centro de Ciência Animal e Veterinária – UTAD, Portugal. ³ Associação Para o Apoio à Bovinicultura Leiteira do Norte, Vila do Conde, Portugal. ⁴ Servicio de Ganadería de Lugo. Xunta de Galicia, Espanha. ⁵ Faculty of Agricultural Sciences - University of Aarhus, Denmark. ⁶ Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, Portugal. *E-mail: cerqueira@esa.ipv.pt

INTRODUCCIÓN

La hiperqueratosis se define como el aumento del espesor y rugosidad del canal del pezón, causado por el aumento de la capa granulosa y de la capa córnea, acompañada de una infiltración perivascular de linfocitos y granulocitos (Neijenhuis et al., 2004), siendo esto una patología que puede afectar al 80% del censo de la explotación (Shearn y Hillerton, 1996). El objetivo de este trabajo ha sido determinar el porcentaje de hiperqueratosis de la población estudiada y su relación con la morfología de los pezones, fase/número de lactación y el sobreordeño.

MATERIAL Y MÉTODOS

Fue realizado un estudio en 32 explotaciones lecheras del Norte de Portugal, con el objetivo de caracterizar la hiperqueratosis de los pezones. Para ello se utilizó la metodología de Neijenhuis et al., (2000), en una escala de de 1 a 8 y observando un total de 1799 animales. Los pezones fueron clasificados en cuanto la forma de la extremidad como redondos, lisos, puntiagudos y invertidos. En cada explotación fueron evaluados al menos el 50% de los animales en lactación. El análisis estadístico fue efectuado con el programa SPSS para Windows versión 15 (SPSS.Inc.). Para determinar los efectos del tipo de pezón, del sobreordeño, del número de lactaciones y de las fases de lactación sobre la hiperqueratosis, se utilizó un modelo de ANOVA y el test de comparación de medias Tuckey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número medio de lactaciones fue de 2,4. El 62% de los animales tenían una o dos lactaciones, reflejándose una elevada taxa de animales jóvenes en los efectivos estudiados. Se observó un valor medio de 206 días de lactación (rango 0 – 878 días). La media de las producciones de leche por ordeño fue de 13,5 kg con un máximo de 34,4 kg. El 74,4% de los pezones observados eran redondos, el 14,2% lisos, el 8,8% puntiagudos, el 1,2% invertidos, rechazándose aquellos que presentaban heridas o de cuartos secos (presentando el 1,3% de la muestra) (Figura 1).

De los 7061 canales de pezones estudiados la hiperqueratosis media fue del 2,9 y dentro de este grupo cerca del 70% de los pezones presentaban una callosidad ligera a extrema (Tabla 1).

Aproximadamente, el 24,8% de los pezones observados presentaban canales rugosas. Considerando la posición de los pezones se observó que el 27,0% de los pezones anteriores eran rugosos, en comparación con el 22,6% de los posteriores (Figura 2). En todas las clases de hiperqueratosis se verificó una frecuencia más elevada en los pezones anteriores.

Se encontraron diferencias significativas de los niveles de hiperqueratosis de los pezones anteriores (3,10) con respecto a los posteriores (2,71). La extremidad de los pezones influyó significativamente en el riesgo de aparición de esta enfermedad, ya que los pezones invertidos y lisos fueron menos susceptibles que los redondos y puntiagudos que presentaron mayor incidencia (Tabla 2).

Conforme con lo citado por Neijenhuis et al. (2000), los pezones puntiagudos desarrollan rugosidad más pronto y en conjunto con los pezones redondos, desarrollan niveles de hiperqueratosis mayores que los pezones clasificados como lisos e invertidos. La razón por la cual los pezones anteriores tienen más hiperqueratosis que los posteriores, se debe con el hecho que los cuartos anteriores producen menos leche, terminando primero el ordeño y

consecuentemente quedando expuestos a periodos de sobreordeño mayores (Neijenhuis et al., 2000). El sobreordeño también reveló diferencias significativas ($P < 0,001$) para la hiperqueratosis, cuyos valores para un ordeño normal fueron de 2,45, y con sobreordeño de 3,51. El número de lactaciones mostró diferencias significativas para esta patología, con hiperqueratosis más baja en la primera lactación en relación y comparativamente con las lactaciones siguientes (Tabla 3). En el análisis de la fase de lactación se constató que a partir de los 60 días de lactación los riesgos de padecer esta enfermedad son mayores para los pezones anteriores (2,40 vs 3,25) que para los posteriores (1,98 vs 2,95). Estudios realizados por Neijenhuis et al. (2000) y Shearn y Hillerton (1996) muestran que los niveles de hiperqueratosis aumentan hasta los primeros 4 meses de lactación disminuyendo posteriormente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Neijenhuis, F., Barkema, H.K., Hogeveen, H., Noordhuizen, J.P.T.M. 2000. Journal of Dairy Science. 83:2795-2804.
- Neijenhuis, F., Hillerton, J.E., Paulrud, C.O., Rasmussen, M. D., Baines, J.R. 2004. National mastitis council annual meeting proceedings. Charlotte. USA.122-131.
- Shearn, M. & Hillerton, J.E. 1996. Journal of Dairy Research. 63:525-532.

Tabla 1: Clasificación de los tipos de callosidad de los animales en estudio

Tipo de callosidad	Ninguna	Ligera	Moderada	Fuerte	Extrema
Anillo suave	30,4%	29,1%	12,3%	3,4%	-
Anillo rugoso		10,7%	5,5%	3,4%	5,2%

Tabla 2: Niveles de hiperqueratosis en función del tipo de extremidad del pezón

Pezón	Extremidad del pezón	N	Media±DT	Mínimo	Máximo	CV (%)
Anterior derecha	Invertido	21	1,38 ^a ±1,53			110,86
	Liso	239	2,21 ^a ± 1,66	1,00	8,00	75,11
	Redondo	1337	3,18 ^b ±2,15			67,61
	Puntiagudo	163	4,12 ^c ±2,30			55,82
	Sig.		***			
	Total	1760	3,11±2,16	1,00	8,00	69,45
Anterior izquierda	Invertido	21	1,38 ^a ±1,53			110,86
	Liso	241	2,17 ^a ± 1,66	1,00	8,00	76,49
	Redondo	1335	3,16 ^b ±2,13			67,40
	Puntiagudo	162	4,12 ^c ±2,26			54,85
	Sig.		***			
	Total	1759	3,09±2,14	1,00	8,00	69,25
Posterior derecha	Invertido	23	1,39 ^a ±1,47			105,75
	Liso	270	1,89 ^a ± 1,43	1,00	8,00	75,66
	Redondo	1312	2,80 ^b ±1,98			70,71
	Puntiagudo	152	3,68 ^c ±2,24			60,87
	Sig.		***			
	Total	1757	2,72±1,97	1,00	8,00	72,43
Posterior izquierda	Invertido	23	1,39 ^a ±1,47			105,75
	Liso	274	1,90 ^a ± 1,44	1,00	8,00	75,79
	Redondo	1318	2,77 ^b ±1,96			70,76
	Puntiagudo	155	3,72 ^c ±2,28			61,29
	Sig.		***			
	Total	1770	2,70±1,97	1,00	8,00	72,96

Sig.: Nivel de significación: *** $P < 0,001$; $a \neq b \neq c$ para $P < 0,001$

Tabla 3: Niveles de hiperqueratosis en función del número de lactación

Pezones	Lactación	N	Media±DT	Mínimo	Máximo	CV (%)
Anteriores	1 ^a	629	2,73 ^a ±1,85	1,00	8,00	67,77
	2 ^a y 3 ^a	766	3,29 ^b ±2,25			68,39
	≥4 ^a	368	3,40 ^b ±2,35			69,12
	Sig.		***			
Total		1763	3,12±2,16			69,23
Posteriores	1 ^a	632	2,38 ^a ±1,76	1,00	8,00	73,95
	2 ^a y 3 ^a	772	2,90 ^b ±2,06			71,03
	≥4 ^a	370	2,84 ^b ±2,05			72,18
	Sig.		***			
Total		1774	2,70±1,97			72,96

Sig.: Nivel de significación: *** P<0,001; a≠b para P<0,001

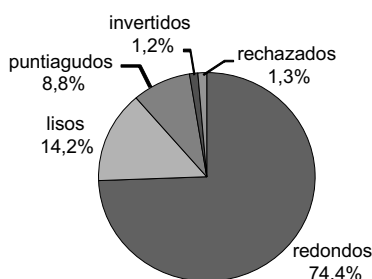


Figura 1: Clasificación de la extremidad de los pezones

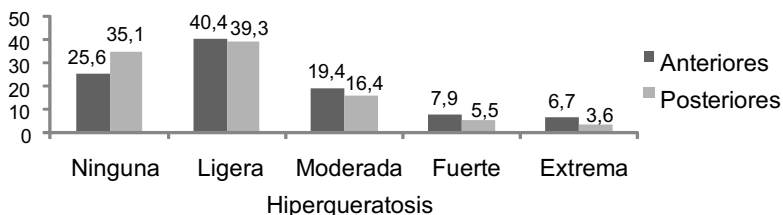


Figura 2: Frecuencia de callosidades de los cuartos anteriores y posteriores

HYPERKERATOSIS OF TEAT IN DAIRY COWS AND ITS EFFECTS

ABSTRACT: The teat hyperkeratosis is a problem present in many of the farms studied. It was found that many risk factors involved in the onset of this problem are present at the farms visited. Factors related to characteristics of animals such as, the stage of lactation, the number of lactations and even the physical characteristics of the teat, like their shape and position, are shown to be associated with hyperkeratosis observed. Sharp and round teats are more prone to hyperkeratosis, than the flat and inverted ones. The front teats (3,12±2,16) also showed greater predisposition to hyperkeratosis of the rear teats (2,70±1,97).

Keywords: Dairy cows, hyperkeratosis, callosity, teat.

ESTUDIO DE LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES DE LA CRÍA DE ABEJAS EN DOS REGIONES DEL NORESTE DE PORTUGAL

Pires, S.^{1*}, Paulos, K., Cadavez, V.

¹ Centro de Investigação de Montanha (CIMO)/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus Sta Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal;

*E-Mail: spires@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, las enfermedades de las abejas representan un problema grave que los apicultores tienen que afrontar, tanto a nivel nacional como mundial. El diagnóstico de laboratorio de las enfermedades de las abejas melíferas es una herramienta clave para su control, ya que la detección precoz es importante, no solo para prevenir la propagación como también para la toma de decisiones en el momento de realizar tratamientos.

La región de Trás-os-Montes, según los criterios climáticos definidos por Gonçalves (1985) y actualizados por Agroconsultores y Coba (1991), posee dos zonas de clima distinto. Así, Terra Fria y Terra Quente son, por lo tanto, los nombres comunes de estas dos zonas que reflejan los contrastes de su clima. En estas dos regiones la actividad apícola es predominantemente no profesional. Sin embargo, esta región es la segunda mayor del país con respecto al número de apicultores (28% del total nacional). Las explotaciones apícolas tienen una dimensión media de 29,4 colmenas y cada apicultor tiene una media de 1,7 colmenares (Programa Apícola Nacional, 2010).

La información sobre la incidencia y distribución de las enfermedades de cría de las abejas en esta región es escasa. Así, este trabajo tuvo como objetivo estudiar la incidencia y la dispersión de las enfermedades de cría de abejas en la región del Noreste de Portugal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Al LPAESAB fueron remitidas un total de 341 muestras de cría de abejas recogidas a lo largo de dos años (2008 y 2009) en colmenares ubicados en la región del Noreste Trasmontano. Estas muestras (porciones de panales con cerca de 12cmx12cm) fueron conservadas en frío, sólo cuando no había ninguna posibilidad de procesamiento inmediato. La inspección y toma de muestras se realizó por los técnicos de las asociaciones y/o agrupamientos de apicultores según el protocolo propuesto por la Dirección General de Veterinaria de los Servicios de Sanidad y Protección Animal (DGV) a lo largo de casi todos los meses del año, pero algunas muestras fueron enviadas directamente al laboratorio por apicultores.

Las técnicas de diagnóstico, basadas fundamentalmente en el examen microscópico, fueron realizadas de acuerdo con los métodos habitualmente utilizados por el laboratorio de referencia a nivel nacional (Laboratorio Nacional de Investigación Veterinaria (LNIV), según las recomendaciones del Manual de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre Animales Terrestres. Las técnicas de diagnóstico empleadas fueron tinción simple o gota pendiente a partir de restos larvales para loque americana, examen macroscópico de la cría de abeja para varroosis (conteo de ácaros en la porción del panal de cría) y ascosferiosis o poyo escayolado (mediante el conteo de momias sobre la porción del panal de cría). Los datos fueron analizados utilizando el software SAS (1995), mediante el test de Kruskal-Wallis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 337 muestras fueron procesadas en el LPAESAB y fueron consideradas inviables cuando sus celdillas no tenían crías o sólo tenían alimento (miel y polen). Esto ocurre, a veces, cuando es el propio apicultor el que hace el muestreo de forma inadecuada. El análisis microscópico de 337 muestras confirmó la incidencia de varroosis, loque americana y ascosferiosis. De las muestras analizadas, el mayor porcentaje correspondió a muestras negativas. El promedio de casos positivos detectados en el laboratorio reveló la presencia de las enfermedades mencionadas en todas las estaciones del año. Sin embargo, hay que resaltar una incidencia más alta ($P < 0.05$) de la varroosis en verano (62,5%) y otoño (64, 2%), así como de la ascosferiosis (Tabla 1). Respecto a la varroosis, esto sucede,

probablemente, porque estas estaciones del año corresponden a los períodos en que no se hacen tratamientos o que aún no fueron hechos (en otoño). Este hecho puede indicar una disminución de la eficacia de los productos utilizados y la necesidad de una evaluación del éxito al final de cada temporada, pero también puede ser debido a un manejo inadecuado del apicultor.

La distribución de enfermedades de cría entre las diferentes zonas climáticas de la región reveló que la prevalencia de casos de loque americana fue mayor ($P < 0.05$) en la zona de la Terra Fria en comparación con la zona de la Terra Quente (Tabla 2). Estos datos sugieren, que los apicultores de la Terra Quente realizan, posiblemente, una gestión sanitaria más adecuada de sus colmenares, haciendo la prevención de estas enfermedades de una forma más planificada. No obstante, el manejo descuidado del apicultor (incluyendo la profilaxis que él realiza o no), puede ser uno de los factores a considerar, pues es una de las formas de contagio entre las distintas colmenas. Podrán, sin embargo, contribuir otras causas a la explicación de estos resultados, como por ejemplo, el desconocimiento del apicultor en relación a la sintomatología de campo de las distintas enfermedades de la cría o de alguna en particular. Quizás esta situación de un manejo sanitario inadecuado también refleje la falta de profesionalidad del sector apícola en la región de estudio ya que la mayoría de los apicultores practica esta actividad como un complemento de su explotación agrícola o como una actividad de ocio. En consecuencia, sería necesario investigar en futuros estudios las razones de estas diferencias.

La varroosis sigue siendo la enfermedad de la cría de abejas que causa mayor preocupación regional y nacional. Así, las entidades responsables del sector apícola portugués deben mantener una atención particular a las estrategias para su control, insistiendo en la sensibilización de los apicultores para la realización de un manejo adecuado (incluyendo siempre medidas de profilaxis) de sus colmenares.

Tabla 1. Porcentaje (%) de muestras positivas obtenidas por estación del año en el período total de estudio

Estación del año	N	Varroosis		Loque americana		Ascosferiosis	
		(%)	n	(%)	n	n	(%)
Primavera	194	37,1a	72	9,2a	18	1,5a	3
Verano	56	62,5b	35	12,5a	7	7,1b	4
Otoño	53	64,2b	34	7,6a	4	5,7b	3
Invierno	34	32,3a	11	17,6a	6	0,0a	0

N, número total de muestras de cría de abejas analizadas. n, número de muestras positivas. a,b En la misma columna, valores con diferentes anotaciones son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

Tabla 2. Porcentaje (%) de muestras positivas obtenidas por y entre las zonas climáticas distintas de la región del Noreste de Portugal.

Zonas	N	Varroosis		Loque americana		Ascospferiosis	
		(%)	n	(%)	n	(%)	n
Terra Fria	185	48,6a	90	15,7a	29	2,7a	5
Terra Quente	152	40,8a	62	4,0b	6	3,3a	5

N, número total de muestras de cría de abejas analizadas. n, número de muestras positivas

a,b En la misma columna, valores con diferentes anotaciones son significativamente diferentes ($P < 0,05$).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agroconsultores y Coba (1991). Projecto de Desenvolvimento Rural Integrado de Trás-os-Montes, Carta de Solos, Carta de Uso da Terra e Carta de Aptidão da Terra do Nordeste de Portugal, UTAD, Vila Real, Portugal, 111p.
- Gonçalves, D. A. (1985). Contribuição para o Estudo do Clima da Bacia Superior do Rio Sabor: Influência da circulação geral e regional na estrutura da baixa atmosfera. Tese de Doutoramento. Instituto Universitário de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.
- Programa Apícola Nacional Triénio de 2011-2013, (2010). Ministério da Agricultura do Desenvolvimento Regional e das Pescas, Gabinete de Planeamento e Políticas, Lisboa, Portugal, 103p.
- SAS Institute Inc., (1995). Users Guide, Version 6, Third Edition, Cary, NC. 582p.
- Vaz, Y., (2007). Resultados do Rastreo Apícola Nacional 2006. Federação Nacional dos Apicultores de Portugal, Direcção-Geral de Veterinária, Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária Publicações, Fórum Nacional de Apicultura, Boticas, Portugal.

INCIDENCE OF HONEY BEE BROOD DISEASES IN TWO REGIONS OF NORTHEAST OF PORTUGAL

ABSTRACT: The aim of this study was to determine the incidence of the honey bee brood diseases at two regions from the Nordest of Portugal. Brood samples of honey bees were collected and analysed at the Laboratory of Honey Bee Pathology at Escola Superior Agraria de Bragança (LPAESAB). Samples were processed for the evaluation of brood diseases: Varroaosis, American foulbrood and Chalkbrood. The results attained show that these diseases occur along all seasons. The diagnosis of Varroosis and Chalkbrood were higher ($P < 0,05$) during summer than in the Autumn. The Chalkbrood and American foulbrood presented higher ($P < 0,05$) incidence at the climatic region of Terra Fria that at Terra Quente. The Varroosis is the disease of the honey bee broods presenting the higher concerns at regional and national level. We conclude that higher efforts are needed in order to define the strategies for the control of these diseases.

Keywords : Honey bee pathology, *Ascospaera apis*, *Paenibacillus larvae*, *Varroa destructor*

Jornada satélite:
III Simposio sobre
microbiología digestiva

ESTUDIO DE LA POBLACION RUMINAL DE BACTERIAS Y HONGOS MEDIANTE TRFLP Y ARISA: EFECTO DEL NIVEL DE L PROTEINA Y TIPO DE CARBOHIDRATO
Belanche¹, A., Pinloche¹, E., Edwards¹, J.E., Moorby¹, J.M., Doreau², M. y Newbold¹ C.J.

¹IBERS, Aberystwyth University, SY23 3EB, UK.

²INRA, Herbivore Research Unit, 63122 Saint-Genès Champanelle, France. aib@aber.ac.uk

INTRODUCCIÓN

En los países desarrollados se ha optado por utilizar raciones con elevados niveles de proteína y suplementadas con carbohidratos fibrosos para maximizar la producción láctea y evitar un descenso en el contenido de grasa. Esta estrategia ocasiona una elevada excreción de N urinario que puede desencadenar problemas medioambientales. La reducción del nivel de proteína en la dieta puede ocasionar un desequilibrio ruminal entre la rápida degradación de N y la lenta fermentación de la fibra, aunque la suplementación con energía fácilmente fermentable podría solucionar dicho problema.

En el presente ensayo (ver material y métodos) se observó que una disminución severa del nivel de proteína bruta (del 14.4 al 10.5%) redujo a la mitad la excreción de N urinario e incrementó la eficiencia de utilización del N dietético (del 25 al 29%, Fanchone et al., 2011a), aunque también redujo ligeramente la producción de leche (-9.2%). Además, la sustitución de fibra por almidón incrementó el contenido proteico en la leche (+7.2%, Fanchone et al., 2011a). Curiosamente, estas dietas tan extremas no modificaron sustancialmente la síntesis microbiana ni su eficiencia de síntesis. Ello pone de manifiesto la gran adaptabilidad del ecosistema ruminal frente a las diferentes situaciones nutricionales e incita a indagar sobre el tipo de cambios microbiológicos que pueden explicar tan sorprendentes resultados.

Para comprender el funcionamiento ruminal es preciso estudiarlo como un ecosistema microbiano. Actualmente existen diversas técnicas moleculares que pueden ayudarnos a ello. El objetivo de este experimento fue estudiar el efecto de la subalimentación proteica y el tipo de carbohidrato sobre la población ruminal de bacterias y hongos anaerobios mediante TRFLP (polimorfismo en longitud del fragmento terminal de restricción) y ARISA (análisis automatizado del espacio intergénico ribosomal), respectivamente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cuatro vacas Holstein a mitad de lactación y provistas de cánula ruminal (662±62 kg de peso vivo y 30.3±1.2 kg leche/d) fueron utilizadas siguiendo un modelo de cuadrado latino 4x4. Las 4 dietas iso-energéticas fueron elaboradas a base de heno/silo de hierba y concentrado (70:30 en MS) y proporcionando dos niveles de proteína (Alto; 110% vs. Bajo; 80% de los requerimientos en proteína degradable) y dos tipos de carbohidratos (ratio FND/almidón 2.85 vs. 1.31). Durante tres días alternos el contenido ruminal (300 g MF) fue muestreado a las 0, 2.5 y 5 horas, congelado inmediatamente y liofilizado para su posterior extracción de ADN (QIAamp DNA mini kit, Qiagen).

La población bacteriana ruminal fue estudiada mediante TRFLP, utilizando un par de cebadores específicos del 16S ARNr bacteriano (27F y 1389R, Liu et al., 1997), estando el primero marcado con fluorescencia. El producto de PCR, tras ser purificado en placas Montage™ PCRμ96 50/PK de Milipore, fue sometido a cuatro digestiones con las enzimas de restricción Hha I, Hae III, Msp I y Rsa I. Los productos de restricción fueron purificados mediante precipitación en etanol y posteriormente analizados en un secuenciador CEQ™ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter), utilizando un estándar de entre 60 y 600pb. El área de cada fragmento fue corregida con el método de la desviación estándar (Abdo et al., 2006) y finalmente el dendrograma y la distancia Bray-Curtis de disimilitud fueron elaborados en base al método UPGMA del programa R (versión 2.10.0).

La población ruminal de hongos anaerobios fue estudiada mediante ARISA, utilizando un par de cebadores específicos de la región ITS1 del 18S ARNr fúngico (Edwards et al., 2008). Tras realizar la PCR por triplicado, y posterior mezcla de los mismos, los productos de PCR fueron analizados en un secuenciador ABI 3130xl Genetic Analyser (Applied Biosystem) utilizando un estándar de 500 pb. El perfil de picos fue explorado mediante el programa Genemapper (Applied Biosystems), mientras que el dendrograma y la distancia Pearson de similitud fueron elaborados en base al método UPGMA del programa Fingerprinting (Bio-Rad). Los picos con un área inferior al 3% del área total no fueron considerados en los cálculos de biodiversidad (número de picos e índice Shannon). El análisis estadístico

consistió en un modelo de medidas repetidas (REML, GenStat) donde el nivel de proteína, tipo de carbohidrato y tiempo fueron los efectos fijos y el animal fue considerado aleatorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El momento de muestreo no ocasionó diferencias en las poblaciones bacterianas y fúngicas ruminales y las tres muestras procedentes de cada animal tendieron a agruparse juntas con una alta similitud. El análisis de TRFLP mostró que el tipo de carbohidrato utilizado es el principal factor que determina la estructura bacteriana ruminal. Animales alimentados con diferentes tipos de carbohidrato mostraron más de un 40% de disimilitud (Fig. 1A), sin embargo este factor no modificó los índices de biodiversidad (Tabla 1). Ello muestra que dependiendo del tipo de carbohidrato (energía fermentable) se produce una sustitución de unas especies bacterianas por otras (supuestamente entre comunidades celulolíticas y amilolíticas), sin que ello modifique sustancialmente el número total de las mismas.

El nivel de proteína también originó cambios en la estructura poblacional bacteriana, aunque en este caso las diferencias no superaron el 37%. Un aspecto a considerar fue la interacción entre el nivel de proteína y el tipo de energía, pues la suplementación con almidón originó mayores cambios en el ecosistema bacteriano cuando los animales recibieron dietas bajas en proteína (Fig. 1A) y fue acompañado por un descenso tanto en el número de fragmentos (de 38.0 a 34.6; $P=0.02$) como en el índice Shannon de diversidad (de 3.31 a 3.22, $P=0.05$).

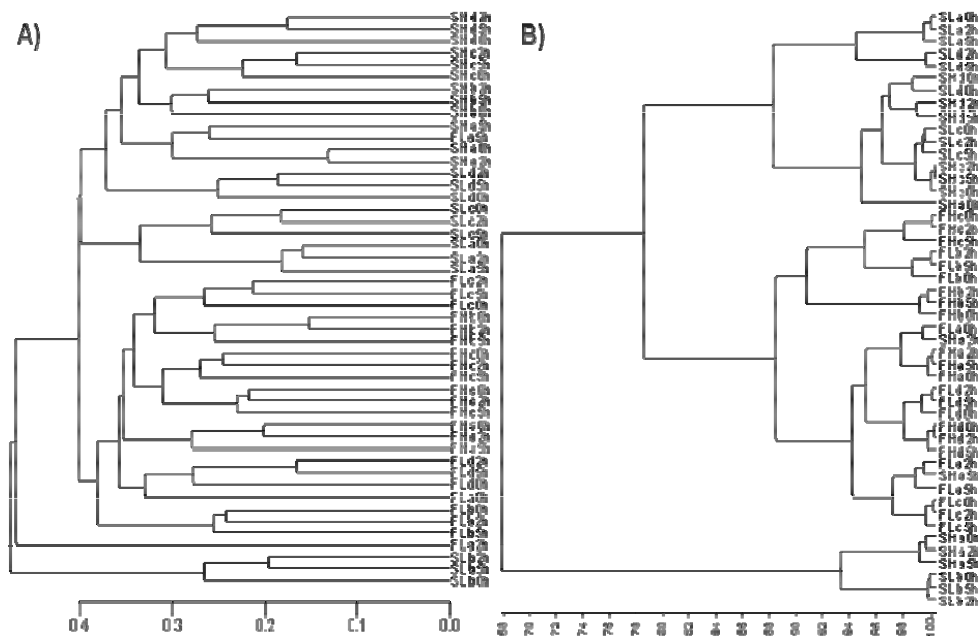


Figura 1. Dendrogramas correspondientes al análisis de las poblaciones ruminales de bacterias (A) y hongos (B) estudiadas mediante TRFLP y ARISA respectivamente. Cuatro vacas (a,b,c,d) fueron muestreadas (0, 2.5 y 5h post-ingesta) tras ser alimentadas con un nivel alto (H) o bajo (L) en proteína y suplementadas con fibra (F) o almidón (S).

El análisis de la población fúngica ruminal mediante ARISA originó resultados similares que el análisis bacteriano. Nuevamente el tipo de carbohidrato fue quien ocasiono las mayores diferencias en la población fúngica (Fig. 1B), de modo que los animales alimentados con un mismo tipo de energía fermentable mostraron más de un 79% de similitud (excepto dos animales). Como era esperable, la dieta fibrosa ocasionó tanto un incremento en el número señales fúngicas (de 30.5 a 33.5; $P<0.001$), como de la abundancia relativa de hongos ruminales determinada mediante PCR cuantitativa (+30%, Belanche et al., 2011), respecto a

la dieta rica en almidón, lo que demuestra que la fibra es un apropiado sustrato para el crecimiento de los hongos ruminales. Dicha proliferación fúngica tanto en cantidad como en biodiversidad, así como su extraordinaria capacidad fibrolítica, pudo explicar la ausencia de diferencias en la digestibilidad ruminal y total entre los dos tipos de carbohidratos (Fanchone et al., 2011b). Por otro lado, aunque el nivel de proteína en la dieta no ocasionó importantes diferencias en la estructura de la población fúngica (Fig. 1B), sí que lo hizo en los niveles de biodiversidad (Tabla 1). En concreto, el nivel alto en proteína incrementó el número de señales fúngicas (de 30.7 a 33.3, $P<0.001$) y del índice Shannon (del 2.95 al 3.00, $P=0.02$). Al igual que lo observado en las poblaciones bacterianas, el menor número de señales fúngicas se observó cuando los animales recibieron dietas bajas en proteína y suplementadas con almidón (interacción, $P=0.05$). Estos descensos en biodiversidad fueron también acompañados por una disminución del nivel de amoníaco ruminal (Fanchone et al., 2011b) y podrían estar relacionados con la mayor eficiencia de utilización de N dietético observada en este tratamiento experimental.

Tabla 2. Efecto del nivel de proteína y tipo de carbohidrato dietético sobre los índices ruminales de biodiversidad bacteriana y fúngica estudiados mediante TRFLP y ARISA.

	Proteína alta		Proteína baja		SED n=12	Significación		
	Fibra	Almidón	Fibra	Almidón		Proteína	Energía	P x E
Bacterias (TRFLP)								
Fragmentos	36.7 ^{ab}	36.9 ^a	38.0 ^a	34.6 ^b	1.04	*	ns	*
Shannon	3.27	3.29	3.31	3.22	0.039	ns	ns	T
Hongos anaerobios (ARISA)								
Productos de PCR	34.1	32.4	32.8	28.6	0.91	***	***	T
Shannon	2.98	3.02	2.94	2.95	0.032	ns	*	ns

T, $P<0.1$; * $P<0.05$; *** $P<0.001$

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdo, Z., Schuette, U.M.E., Bent, S.J., Williams, C.J., Forney, L.J. & Joyce, P. 2006. Environ. Microbiol. 8, 929-938
- Belanche, A., Moorby, J.M., Doreau, M. & Newbold C.J. 2011, AIDA-ITEA (en prensa)
- Edwards, J.E., Kingston-Smith, A.H., Jimenez, H.R., Huws, S.A., Skot, K.P., Griffith, G.W., McEwan, N.R. & Theodorou, M.K. 2008. Fems Microbiol. Ecol. 66: 537-545
- Fanchone, A., Doreau, M. & Nozière, P. 2011a Procc. BSAS (en prensa)
- Fanchone, A., Nozière, P., Portelli, J., Chauveau-Duriot, B., Largeau, V. & Doreau, M. 2011b Procc. BSAS (en prensa)
- Liu, W.T., Marsh, T.L., Cheng, H. & Forney, L.J. 1997. Appl. Environ. Microbiol., 63, 4516-4522

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la UE, FP7, KBB-2007-1.

STUDY OF RUMEN BACTERIAL AND ANAEROBIC FUNGAL POPULATION BY TRFLP AND ARISA; EFFECT OF THE PROTEIN LEVEL AND TYPE OF CARBOHYDRATE: Four rumen-cannulated dairy cows were fed with two levels of degradable protein (110 vs. 80% of requirements) and two type of carbohydrates (NDF/starch of 2.8 and 1.3) according to a 4x4 Latin square. Rumen contents were sampled at 0, 2.5 and 5h after feeding for DNA extraction. Bacterial and anaerobic fungal populations were studied by using TRFLP and ARISA respectively. Sampling time modified neither the microbial population structure nor the biodiversity indexes. Bacterial population composition was affected by the type of carbohydrate used but did not modify the bacterial diversity, suggesting a shift in the bacterial species profile but the maintenance of population structure. Bacterial clustering was also affected by the protein level, particularly in animals supplemented with starch. Anaerobic fungal population was also affected by the type of carbohydrate, and fibrous diet increased the number of amplicons ($P<0.001$). Dietary protein level did not modify the anaerobic fungal clustering, but high protein diets increased the number of amplicons ($P<0.001$). Animals fed the low protein diet supplemented with starch showed the lowest bacterial (34.6 vs. 37.2 fragments; $P=0.01$) and fungal (28.6 vs. 33.1 amplicons; $P=0.05$) diversity, and may be related to the highest efficiency of dietary N utilization observed in this experimental group.

Keywords: arisa, fungi, rumen, trflp

MODIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA DEL RUMEN MEDIANTE ACCIONES DIRECTAS EN EL ANIMAL PRERUMIANTE Y EN SUS MADRES

Abecia¹, L., Martín-García¹, A.I., Martínez¹, G., Molina-Alcaide¹, E., Newbold², C.J., y Yáñez-Ruiz¹, D. R.

¹Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008 Granada, España.

²IBERS, Aberystwyth University, Aberystwyth, SY23 3DA, Reino Unido.

leticia.abecia@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Tras el nacimiento del rumiante se desarrolla en el rumen una microbiota compleja, incluyendo bacterias fibrolíticas y arqueas metanogénicas, que se establece mucho antes del comienzo de la ingestión de alimentos sólidos (Stewart et al., 1988). Aunque las arqueas metanogénicas colonizan pronto el rumen, el tipo de poblaciones que logran establecerse depende de varios factores. Así, se ha descrito una alta variabilidad individual en la cantidad y diversidad de arqueas metanogénicas en animales procedentes de distintas madres que crecen en las mismas condiciones, indicando que la madre es el origen fundamental de las arqueas metanogénicas presentes en los rumiantes jóvenes (Skillman et al., 2004). Por otro lado, trabajos recientes sugieren que la naturaleza de la dieta suministrada en etapas tempranas de la vida del rumiante ejerce un efecto mayor y más duradero sobre la microbiota del rumen que la dieta que el animal recibe durante la edad adulta (Yáñez-Ruiz et al., 2010). Ello indicaría que la estructura de las poblaciones microbianas que se establecen en el animal joven, durante el desarrollo del rumen, puede persistir a largo plazo, haciendo posible predeterminar la microbiota ruminal del animal adulto.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el modelo de fermentación y los grupos microbianos mayoritarios en el rumen de cabras en lactación y de su descendencia cuando, en ambos grupos, se utilizaba o no un aditivo con acción anti-metanogénica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 18 cabras de raza murciano-granadina (43±1,7 kg de peso vivo) alojadas en habitáculos individuales y alimentadas con heno de alfalfa y concentrado (1:1) en cantidad suficiente para producir 2 L/día de leche. Tras el parto se repartieron al azar en dos grupos experimentales, a uno de los cuales (M+) se le administró, durante el período de lactación de las crías (8 semanas), un hidrocarburo alifático halogenado, denominado bromoclorometano (BCM) al 10-12% en una matriz de α -ciclodextrina, en dos tomas diarias (6 mg de BCM/kg PV/día). A las cabras control (M-) no se les suministró el aditivo mencionado.

La mayoría de las cabras parieron dos chotos (ch), de los cuales uno recibió, desde semana siguiente al parto, el preparado BCM (ch+) y el otro no (ch-), independientemente de que la dieta de la madre incluyese o no el aditivo, resultando 4 grupos experimentales de chotos (n=8): M+/ch+, M+/ch-, M-/ch+, M-/ch-. La pauta de administración de BCM a los chotos fue la misma que la empleada con las madres. Para estudiar el efecto del preparado en el ecosistema ruminal de madres y crías, en el momento del destete y antes de la toma de alimento de la mañana, se tomó de ambos una muestra de contenido ruminal a través de sonda gástrica. Mediante cromatografía de gases se analizó la concentración en ácidos grasos volátiles (AGVs) y se cuantificaron los grupos microbianos más abundantes empleando PCR a tiempo real (Yáñez-Ruiz et al., 2010). A continuación, los chotos se distribuyeron en cuatro corrales independientes, en función del tratamiento experimental que recibían, donde se mantuvieron durante otro mes, al final del cual se volvieron a recoger muestras del contenido ruminal de la manera antes descrita y se sometieron a los análisis también descritos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El tratamiento recibido por las cabras no modificó la concentración total de AGV en el rumen (Tabla 1). Sin embargo, las proporciones molares de estos sí se vieron afectadas ($P < 0,001$) por la presencia del aditivo, incrementándose la proporción de ácido propiónico y disminuyendo las de isobutírico e isovalérico así como la relación acético:propiónico. El número de copias de bacterias totales, arqueas metanogénicas y protozoos presentes en las cabras, no mostró ninguna diferencia ($P > 0,05$) debida al tratamiento.

Tabla 1. Efecto de la adición de bromoclorometano (BCM) a cabras (C) y chotos (ch) sobre el perfil de ácidos grasos volátiles y el recuento de los tres grupos microbianos mayoritarios en el rumen en el momento del destete y un mes tras el mismo (+1mes).

Madres		Adición de BCM				EEM	P-valor	
		M+		M-				
AGV totales (mM)		7,44	5,85	0,879	0,2157			
% Acético		60,3	61,2	1,15	0,5901			
% Propiónico		15,5	11,1	0,543	0,0000			
% Isobutírico		3,78	5,24	0,210	0,0002			
% Butírico		13,54	13,51	0,665	0,9735			
% Isovalérico		4,52	6,44	0,347	0,0015			
% Valérico		2,30	2,46	0,224	0,6150			
Acetato/Propionato		3,92	5,63	0,258	0,0003			
Log ₁₀ copias del gen/g MF								
Metanogénicas		7,88	7,96	0,161	0,7525			
Bacterias Totales		10,3	10,0	0,116	0,1235			
Protozoos		9,57	9,54	0,077	0,8103			
Chotos		M+		M-		EEM	P-valor	
		ch+	ch-	ch+	ch-		Madres	chotos
AGV totales (mM)	Destete	6,04	9,43	3,79	4,12	1,505	0,0333	0,2474
	+1 mes	17,3	20,2	23,5	17,2	4,101	0,6897	0,6784
% Acético	Destete	58,7	68,8	55,8	70,5	2,526	0,8188	0,0009
	+1 mes	62,1	65,8	59,9	63,4	2,15	0,2777	0,0973
% Propiónico	Destete	20,6	15,3	19,1	14,9	1,620	0,5870	0,0165
	+1 mes	19,1	15,3	22,3	18,7	2,68	0,2261	0,1718
% Isobutírico	Destete	3,68	2,98	4,47	3,10	0,786	0,5741	0,2211
	+1 mes	1,68	2,04	1,68	2,00	0,422	0,6623	0,2312
% Butírico	Destete	9,90	7,43	11,7	5,65	1,778	0,9945	0,0401
	+1 mes	14,0	12,8	13,4	12,6	1,400	0,7805	0,4745
% Isovalérico	Destete	4,98	4,10	5,83	4,30	0,833	0,5956	0,2421
	+1 mes	1,85	2,60	1,50	1,84	0,511	0,2786	0,2847
% Valérico	Destete	2,20	1,48	3,00	1,65	0,296	0,1345	0,0067
	+1 mes	1,31	1,48	1,62	1,50	0,158	0,3037	0,8703
Acetato/Propionato	Destete	2,93	4,51	3,02	4,80	0,291	0,5904	0,0007
	+1 mes	3,79	4,42	2,97	3,57	0,472	0,0843	0,1943
Log ₁₀ copias del gen/g MF								
Metanogénicas	Destete	7,63	8,19	7,28	7,02	0,328	0,0271	0,6605
	+1 mes	7,31	7,96	6,72	7,81	0,289	0,2215	0,0065
Bacterias Totales	Destete	10,4	10,5	10,3	10,1	0,134	0,0664	0,7684
	+1 mes	9,97	10,4	9,93	10,4	0,124	0,8257	0,0033
Protozoos	Destete	8,64	9,37	8,73	8,13	0,528	0,2954	0,8982
	+1 mes	9,68	9,79	9,68	9,74	0,165	0,8872	0,5948

En el momento del destete el contenido ruminal de los chotos con madres M+ mostró una mayor (P=0,03) concentración de AGV totales frente al de chotos con madres M-. Las proporciones de ácidos acético, propiónico, butírico y valérico del contenido ruminal de los chotos al destete también se afectó por el tratamiento del choto (P<0,01) y, por ello, también lo hizo la relación acético:propiónico (P<0,001), siendo menor en los ch+ que en los ch-. Estas diferencias no se apreciaron un mes después del destete, salvo en la relación acético:propiónico, que mostró una tendencia (P=0,08) a permanecer menor en los chotos de

madres sin tratar. Por otro lado, el aditivo sí afectó el número de arqueas metanogénicas en el rumen de los chotos tanto al destete ($P=0,03$) como un mes después ($P=0,007$). En el momento del destete se observó un efecto de la madre, siendo mayor el número de arqueas metanogénicas en los chotos con madres M+. Un mes después del destete las diferencias se debieron sólo al tratamiento de los chotos, con valores mayores para los ch-. El número de bacterias totales en los chotos al destete no se vio modificado por el tratamiento pero sí hubo una tendencia a ser mayor ($P=0,06$) en chotos de madres tratadas. Al igual que ocurrió con las arqueas, un mes después del destete las diferencias ($P=0,003$) en bacterias totales se debieron al tratamiento de los chotos, siendo mayor el número de bacterias totales en los ch- que en los ch+. La concentración de protozoos ruminales no fue afectada por ninguno de los tratamientos experimentales.

El descenso en la proporción acetato:propionato del rumen ha sido descrita como característica del uso de compuestos que disminuyen la formación de metano y promueven el uso de hidrógeno para reducir ácidos grasos de cadena corta (Denman et al., 2007). En las cabras adultas, cuyo rumen tiene unas condiciones más estables que en el animal joven, la concentración de las poblaciones microbianas no parece verse afectada por el aditivo, aún cuando éste afecte al modelo de fermentación. Sin embargo, en un rumen en desarrollo, como el de los chotos, el cambio en el modelo de fermentación fue acompañado por un efecto a nivel microbiano, tanto en arqueas como en bacterias totales. Este efecto, en un principio, parece estar asociado al tratamiento que reciben las madres, y, a medio plazo, depende sólo del tratamiento que reciben las crías.

Nuestros resultados sugieren que el manejo de la dieta, en un estadio temprano de la vida del rumiante, puede promover cambios en la microbiota que coloniza el rumen que modifiquen la fermentación ruminal. Esta respuesta puede estar también influenciada por un componente materno. El estudio de la estructura de las poblaciones microbianas que colonizan el rumen en estas etapas posiblemente aporte más información sobre el proceso de colonización ruminal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Denman SE, Tomkins NW, McSweeney CS. 2007. FEMS Microbiol Ecol. 62:313-322.
- Skillman LC, Evans PN, Naylor GE, Morvan B, Jarvis GN, Joblin KN. 2004. Anaerobe. 10:277-285.
- Stewart CS, Fonty G, Gouet P. 1988. Anim Feed Sci Tech 21:69-97.
- Yáñez-Ruiz DR, Macías B, Pinloche E, Newbold CJ. 2010. FEMS Microbiol Ecol. 72:272-278.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Comisión Europea (Marie Curie Reintegration Grant 224816). L. Abecia agradece la concesión de un contrato postdoctoral del programa JaeDoc del CSIC. También se agradece la asistencia técnica a I. Jiménez.

PROGRAMMING RUMEN MICROBIAL ECOSYSTEM THROUGH THE INTERVENTION ON THE EARLY LIFE STAGE OF PRE-RUMINANTS AND THEIR MOTHERS

ABSTRACT: This experiment was designed to study the effect of treating animals in early life and the mothers with an antimethanogenic compound (bromochloromethane, BCM) on rumen fermentation and microbial profiles and the persistency of the effects in the medium term. Eighteen goats giving birth to two kids were used. Nine goats were treated with BCM (M+ goats) after giving birth and over 8 weeks. The other 9 goats were not treated (M- goats). One kid per mother in both groups was treated with BCM (ch+) while the other was untreated (ch-), therefore resulting in four kids experimental groups: M+/ch+, M+/ch-, M-/ch+ and M-/ch-. Rumen samples were collected once from the mothers before weaning (at 8 weeks) and twice from the kids: at weaning and a month after weaning (while ch+ were still treated). BCM treatment on mothers did not affect either total amount of VFA or microbial counts, although the acetate:propionate ratio decreased as well as in the rumen of kids at weaning and a month later. In the rumen of kids, archaea and bacteria were affected by mother's treatment at weaning and by kid's treatment one month later, being lower the numbers in treated animals. Results suggest that an early intervention in the diet of young animals could have an effect on the development of the adult rumen ecosystem.

Keywords: archaea, bromochloromethane, rumen colonization

ESTUDIO DEL CRECIMIENTO BACTERIANO DURANTE 24 HORAS DE INCUBACIÓN EN EL SISTEMA ANKOM^{RF}

Martínez, G., Abecia, L., Soto, E., Martín-García, A.I., Molina-Alcaide, E. y Yáñez-Ruiz, D. R.
Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008 Granada.
gonzalo.martinez@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Un sistema ideal *in vitro* que simule la fermentación ruminal, debe permitir un crecimiento de los microorganismos similar al que ocurre en el rumen a lo largo del período de incubación considerado (Soto et al., 2009). Los cultivos no renovados de microorganismos ruminales permiten determinar *in vitro* la producción de gas promovida por la fermentación de una determinada dieta, habiéndose utilizado a lo largo de los últimos 20 años para evaluar el efecto de aditivos sobre la fermentación ruminal (Pell et al., 1998). El uso de estas técnicas permite disminuir el número de animales intervenidos quirúrgicamente, además de ser relativamente baratas y sencillas. Aunque dichos sistemas implican gran cantidad de ventajas, también plantean inconvenientes, como los derivados de la no liberación del gas acumulado en el interior de los frascos de fermentación, con el consiguiente aumento de la presión hasta niveles no fisiológicos (Rymer et al., 2005) o la no renovación de los nutrientes, que sí ocurre en el animal. El mayor inconveniente puede derivar de un crecimiento microbiano inadecuado, aunque este aspecto ha sido poco estudiado tanto en los sistemas utilizados de forma convencional como en los nuevos sistemas que se están desarrollando para superar las citadas limitaciones y optimizar la simulación de la fermentación ruminal. Además, conviene destacar la necesidad de conocer el crecimiento microbiano en los sistemas *in vitro*, para relacionar el efecto de la dosis de aditivos y principios activos sobre la microbiota.

El objetivo de este trabajo fue estudiar en el sistema Ankom^{RF} Gas Production la evolución de la concentración de las bacterias totales en relación al inóculo y cuantificar la producción de gas durante 24 horas de incubación de una dieta constituida por heno de alfalfa y avena (1:1), empleando inóculo ruminal de caprino.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se emplearon cultivos no renovados de microorganismos ruminales (Ankom^{RF} Gas Production, Ankom, NY, EEUU) para incubar durante 24 h una dieta a base de heno de alfalfa y avena (1:1). Se realizaron dos series de incubaciones en frascos de vidrio de 310 ml de capacidad, y se incubaron 0,5 gramos de muestra molida a 1mm de grosor, con dos frascos sólo con inóculo (blancos). A cada frasco se le añadieron 60 ml de un inóculo compuesto por contenido ruminal filtrado y una solución tampón (Menke y Steingass, 1988) en una relación 1:3. El inóculo ruminal se obtuvo de 3 cabras de raza granadina, canuladas en rumen y alimentadas con la misma dieta incubada *in vitro*. El contenido ruminal de cada animal se extrajo antes de la toma de alimento, se filtró a través de 2 capas de gasa bajo un flujo de CO₂ y se mezcló con la solución tampón. Los frascos se mantuvieron en un baño de agua a 39° C durante 24 horas y la presión en los frascos se registró automáticamente cada minuto, utilizándose los valores obtenidos para calcular el volumen total de gas producido mediante la fórmula $V = V_i \times P_{psi} \times 0.068004084$. El gas producido en cada frasco se liberó automáticamente cuando la presión interna llegó a 2 psi. En cada serie de incubación se abrieron dos frascos a cada uno de los tiempos de incubación siguientes: 4, 8, 12, 16, 20 y 24 horas, se congeló a -80°C el contenido total de los frascos para detener la fermentación y, posteriormente, se liofilizó. De la misma manera se procedió con el resto de las muestras: alícuotas del contenido ruminal entero, así como de sus fracciones líquida y sólida tras la filtración, y de la mezcla que constituyó el inóculo de los frascos de fermentación. A partir de las muestras liofilizadas se realizó la extracción de ADN total utilizando el kit QIAmp[®] DNA Stool Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania). El ADN se empleó para la cuantificación absoluta de bacterias totales, mediante PCR a tiempo real, amplificando un fragmento de unas 120 pares de bases del gen 16S rRNA. Se usaron cebadores específicos y universales de eubacterias (Maeda et al., 2003). Para cuantificar las copias génicas se emplearon patrones consistentes en extractos del plásmido pCR[®]4-TOPO (Invitrogen[™], Carlsbad, CA, USA), recombinado con el fragmento diana anteriormente mencionado. Para la amplificación de los patrones y de las muestras problema se utilizó la mezcla comercial iQ[™] SYBR[®] Green Supermix 2X y el sistema de amplificación – detección iCycler – iQ5 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). El número de copias génicas se expresó por unidad de muestra fresca de la que procedía el extracto de ADN considerado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción de gas acumulado durante las primeras 24 horas siguió un modelo exponencial propio de este tipo de fermentaciones (Figura 1). La cuantificación de las copias del rRNA 16S en las fracciones sólida y líquida del contenido ruminal mostró que la filtración implica la pérdida de una parte muy importante de la biomasa bacteriana presente en el rumen, y que la fracción líquida, normalmente empleada para la preparación del inóculo de sistemas in vitro, contiene un 38% menos de biomasa de bacterias que la fracción sólida (Figura 2). Esto concuerda con las proporciones de bacterias asociadas a las fases sólida y líquida del contenido ruminal encontradas por otros autores (Cheng et al., 1995). La mezcla de la fracción líquida del contenido ruminal con la solución tampón provoca una disminución adicional de la biomasa bacteriana, que resultó del 13 % de la biomasa presente en el contenido del rumen. El descenso de la biomasa bacteriana debido al proceso de preparación del inóculo junto con el hecho de que la población de bacterias presente en la fracción sólida sea manifiestamente distinta a la de la fracción líquida, en términos de estructura y diversidad (Kong et al., 2010), sugiere la necesidad de revisar el procedimiento estandarizado para la preparación del inóculo que se emplea en los sistemas de simulación ruminal in vitro con objeto de utilizar un inóculo ruminal más representativo del contenido ruminal.

Es destacable que la biomasa bacteriana del inóculo aumente tras el inicio de la incubación observándose un incremento del 170%, con respecto a la biomasa existente en el inóculo inicial, tras las 4 horas primeras de incubación, incremento que se ralentiza con la progresión del periodo de incubación (36% a las 4-8 h, y 11% a las 8-12 h en que se alcanzó el crecimiento microbiano máximo). A partir de las 12 horas se produjo una inflexión en la tendencia, disminuyendo la biomasa bacteriana. En el intervalo 12-16 horas se registró un importante descenso del 53 % en la biomasa presente, la cual siguió descendiendo aunque de manera menos importante hasta las 24 horas. La producción de gas en cada intervalo estudiado siguió un modelo parecido al observado en el crecimiento bacteriano, con producciones mayores en los intervalos de mayor crecimiento bacteriano.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en trabajos de nuestro grupo de investigación realizados con un sistema de producción de gas tradicional (Soto et al., 2009), que mostraron que a las 24 horas se alcanzaba una biomasa bacteriana similar a la del inóculo ruminal de partida. En el caso del sistema in vitro utilizado en este trabajo a las 24 horas se alcanzan valores superiores a los de la mezcla del inóculo ruminal y el tampón iniciales, con un crecimiento bacteriano muy notable entre las 0 y las 12 horas. Este importante incremento podría deberse, en parte, al sistema de regulación de la presión interna en el frasco de fermentación, como consecuencia de la liberación automática del gas cuando la presión alcanza un valor de 2 psi.

Nuestros resultados muestran que el filtrado al que se somete el contenido ruminal durante la preparación del inóculo para sistemas in vitro conlleva un descenso muy importante de la biomasa bacteriana. Sin embargo, las condiciones del sistema Ankom^{RF} Gas Production favorecen que durante la incubación se produzca un crecimiento muy significativo de la biomasa bacteriana con respecto a los sistemas que no permiten la liberación automática del gas de fermentación. Los valores de masa bacteriana obtenidos tras 12 horas de incubación son muy similares a los del líquido ruminal filtrado que se emplea como inóculo. No obstante la concentración media que se alcanza no llega a los niveles del contenido ruminal original, aspecto que ha de ser tenido en cuenta para extrapolar los resultados obtenidos in vitro a condiciones in vivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cheng, K. J., McAllister, T. A., Costerton, J. W., 1995. *Microbial Biofilms*. Cambridge University Press.
- Kong, Y., Teather R. y Forster R. 2010. *FEMS Microbiol Ecol* 74, 612-622.
- Maeda H., Kokeguchi S., Arai, H., Tanimoto I., Nishimura, F. y Takashiba S. 2003. *FEMS Immunol. Medical Microbiol.* 39: 81-86.
- Menke, K. H. y Steingass, H. 1988. *Animal Research and Development*, 7 – 55.
- Pell, A.N., Pitt, R.E., Doane, P.H. y Schofield, P. 1998. *British Society of Animal Science. Occasional Publication*, 22. 45–54.
- Rymer, C., Huntington J.A., Williams B.A. y Givens D.I. 2005. *Animal Feed Scie. and Techn.* 123–124, 9–30.
- Soto E. C., Molina-Alcaide, E., Khelil, H. y Yáñez-Ruiz, D. R. 2009. *AIDA. Tomo II*, 766-768.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2008AGL2008-04707-C02-01). G. Martínez agradece la concesión de una beca predoctoral del programa FPI 2009 del Ministerio de Ciencia e Innovación. También se agradece la asistencia técnica de J. Fernández, I. Jiménez y T. García.

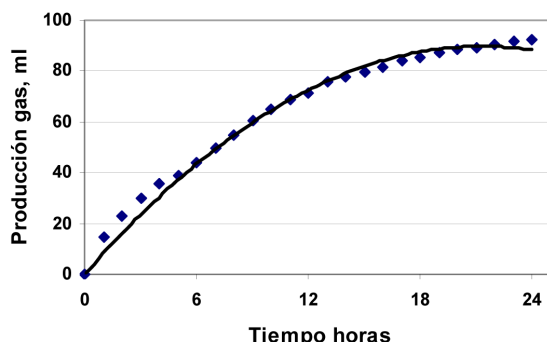


Figura 1. Producción de gas acumulada durante 24 horas de incubación en un sistema Ankom^{RF} Gas Production

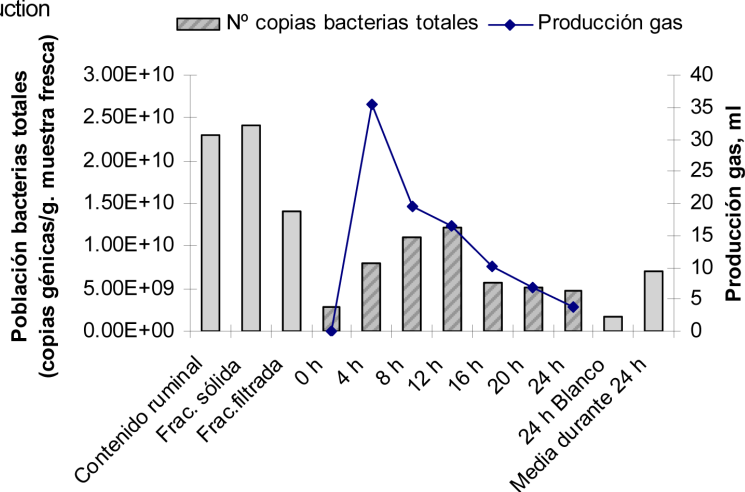


Figura 2. Valores medios de copias génicas (*16S rRNA*) de bacterias totales en las distintas fracciones del contenido ruminal y a lo largo de las primeras 24 horas de incubación en un sistema Ankom^{RF} Gas Production. Evolución en la producción de gas los intervalos de 4 horas estudiados.

BACTERIAL GROWTH IN THE ANKOM^{RF} IN VITRO FERMENTATION SYSTEM OVER 24 HOURS OF INCUBATION

ABSTRACT: *In vitro* systems that simulate rumen fermentation should allow for a microbial growth similar to what occurs in the rumen. Although these systems have been widely used over the last 20 years, there is little information about the evolution of the microbial communities compared with the rumen. Furthermore, these systems have the restriction of high pressure that accumulates in the jars. The aim of this work was to study the bacterial growth in the Ankom^{RF} *in vitro* fermentation system over 24 hours using rumen inoculum from goats and a diet based on alfalfa hay and oats (1:1). Total bacteria were quantified by using qPCR on DNA extracts of jars' content at 4 hours intervals along the 24 hours of incubation and of the inoculum. Results showed that the use of the rumen liquid fraction as inoculum involves a decrease in the original bacterial biomass. However, the decrease is fully compensated by a rapid bacterial growth during incubation, reaching a biomass equivalent to that in the original rumen liquid fraction. Nevertheless, the average concentration over the 24 hours of incubation was lower than in the rumen content, which might be considered for extrapolating *in vitro* results to *in vivo* conditions.

Keywords: bacterial biomass, *in vitro*, rumen fermentation.

EFECTO DEL POLIETILENGLICOL SOBRE LA COMUNIDAD BACTERIANA DEL RUMEN: CULTIVOS IN VITRO CON INÓCULO DE OVEJAS ALIMENTADAS SOLO CON FORRAJE O CON UNA DIETA RICA EN CONCENTRADO

Belenguer, A.^{1,*}, Hervás, G.¹, Toral, P.G.¹, Fondevila, M.², Frutos, P.¹

¹ Instituto de Ganadería de Montaña, CSIC-ULE, Finca Marzanas, 24346 Grulleros, León.

² Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet, 177 50013 Zaragoza.

*correo electrónico: a.belenguer@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

El polietilenglicol (PEG) es un detergente no iónico que presenta una gran afinidad por los taninos, a los que se une e inactiva, y que se utiliza muy habitualmente para estudiar el efecto de los taninos sobre la fermentación ruminal, a la cual se ha demostrado que no afecta (Makkar, 2003). Sin embargo, aún no está claro si su uso puede afectar o no a la comunidad microbiana del rumen.

En un estudio preliminar in vitro (Belenguer et al., 2010) se investigó el efecto del PEG sobre la comunidad bacteriana del rumen mediante la técnica del polimorfismo de la longitud de los fragmentos terminales de restricción (T-RFLP). Aunque los perfiles bacterianos no mostraron diferencias acusadas, sí se observaron variaciones significativas en la frecuencia relativa de diversos fragmentos que podrían corresponder a bacterias relevantes en estudios de microbiología ruminal relacionados con la acción de los taninos. Dichas variaciones fueron especialmente claras cuando se utilizó maíz como sustrato.

Por tanto, este trabajo se planteó con el objetivo de confirmar el posible efecto del PEG sobre la comunidad bacteriana del rumen, utilizando inóculos procedentes de ovejas alimentadas solo con forraje o con una dieta rica en alimentos concentrados.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este experimento se utilizaron 6 ovejas canuladas en el rumen que se dividieron en dos grupos y se alimentaron con 2 dietas diferentes: heno de hierba (F) y una dieta completa con un 60% de concentrado (C). Después de 10 días de adaptación, y tras una noche de ayuno, se recogieron muestras de fluido ruminal de cada animal y se mezclaron para dar lugar a un único inóculo por dieta. A continuación, se llevaron a cabo cultivos discontinuos de microorganismos ruminales, siguiendo el procedimiento descrito para la técnica in vitro de producción de gas (Mauricio et al., 1999). Los cultivos se realizaron por triplicado, utilizando maíz como sustrato (500 mg/botella) y con la adición o no de PEG (1 g/botella). La fermentación se detuvo a las 22 h y se mezclaron los contenidos de las 3 botellas de cada tratamiento. Las muestras fueron congeladas inmediatamente a -80°C y posteriormente liofilizadas. Para disponer de réplica estadística, todo el proceso se repitió 2 días después.

El ADN de las muestras liofilizadas se extrajo con el kit QIAmp DNA Stool Mini Kit (Qiagen GmbH, Alemania), con la modificación de una mayor temperatura (95°C) en la lisis celular. Para el análisis mediante T-RFLP se utilizaron cebadores que amplifican el gen del ARN ribosómico 16S bacteriano (Hongoh et al., 2003), estando uno de ellos marcado con 6-carboxifluoresceína. El producto de la PCR fue purificado, cuantificado y a continuación digerido (95 ng) utilizando las enzimas de restricción HhaI y MspI (10 U; 37°C, 12 h) por separado. Los productos de dicha digestión fueron purificados y finalmente los fragmentos terminales de restricción (T-RF) se analizaron en un secuenciador capilar automático Megabace 500 (Amersham Biosciences, Reino Unido), utilizando fragmentos de entre 50 y 900 pares de bases (pb) como patrones.

El perfil de picos se analizó mediante el programa GeneMarker (Softgenetics, EE. UU.) y, tras estandarizar los datos, se procedió a la construcción de un dendrograma, utilizando el método Ward's y las distancias Bray-Curtis, con el programa informático Community Analysis Package 4 (Pisces Conservation Ltd, Reino Unido). El análisis estadístico del número de fragmentos detectados y de los porcentajes del área de ciertos fragmentos se realizó mediante análisis de varianza, utilizando el programa MIXED del paquete estadístico SAS versión 9.1. (SAS Institute Inc., EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Figura 1 muestra claramente cómo los perfiles bacterianos se agruparon principalmente por tanda y por dieta (C y F), lo que parece indicar que la estructura de la comunidad bacteriana no se vio afectada por la adición de PEG.

No obstante, y al igual que ocurría en el estudio previo (Belenguer et al., 2010), la inclusión de este detergente sí que alteró las proporciones relativas sobre el área total de picos de algunos T-RF (ver Tabla 1). Sin embargo, en este experimento hubo menos fragmentos que mostraron variaciones significativas y estas se observaron únicamente en las incubaciones con el inóculo procedente de los animales que consumían solo forraje. Entre los T-RF afectados, destacan el de 192 pb obtenido con HhaI y el de 316 pb con MspI, que presentaron frecuencias relativas elevadas, las cuales, además, descendieron con la adición de PEG. Ambos T-RF son compatibles con bacterias del género *Butyrivibrio*, que incluye diversos microorganismos que serían capaces no solo de resistir la presencia de taninos, sino incluso de degradarlos (Odenyo et al., 2001).

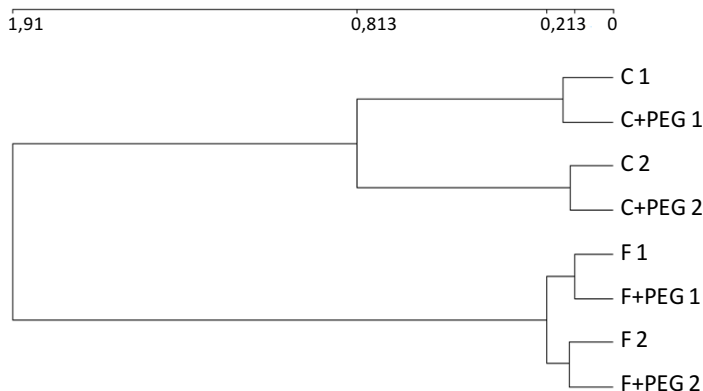


Figura 1. Dendrograma construido a partir del análisis mediante T-RFLP del ADN extraído de muestras de incubaciones de maíz con inóculos de ovejas alimentadas con forraje (F) o con una dieta completa con un 60% de concentrado (C) y con la adición (+PEG) o no de polietilenglicol, realizadas en dos tandas separadas por 2 días (1 y 2).

Conviene destacar que, en este ensayo, las diferencias entre tandas (i.e., debidas al inóculo) resultaron significativas en la mayor parte de los casos (aunque esta información no se presenta en la tabla). Dichas diferencias fueron especialmente acusadas cuando los donantes del inóculo fueron los animales alimentados con la dieta completa (ver Figura 1), lo cual podría haber dificultado la detección del efecto del PEG sobre algunas poblaciones bacterianas. A pesar de que se ha descrito una cierta estabilidad en la estructura de la microbiota ruminal a lo largo de periodos de tiempo cortos (Yáñez-Ruiz et al., 2009), es posible que existan variaciones temporales de algunas poblaciones bacterianas dentro de un mismo animal.

Por lo tanto, aunque nuestros resultados no permitirían confirmar el efecto del PEG sobre la comunidad bacteriana del rumen, tampoco permiten rechazar categóricamente su existencia. De existir, los datos sugieren que el efecto sería diferente dependiendo de la dieta consumida por los animales. En cualquier caso, dada la relevancia del posible efecto del PEG sobre la comunidad bacteriana en estudios de microbiología ruminal sobre los mecanismos de acción de los taninos, sería recomendable completar esta investigación con nuevos ensayos en los que se intentara reducir la variación debida al inóculo (e. g., incrementando el número de muestras).

Tabla 1.- Número de T-RF y frecuencias relativas (%) sobre el área total de picos de algunos T-RF de diferente longitud (pares de bases, pb) obtenidos a partir de los resultados de T-RFLP en incubaciones de maíz con inóculos de ovejas alimentadas con un forraje (F) o con una dieta completa con un 60% de concentrado (C) y con la adición (PEG+) o no (PEG-) de polietilenglicol.

Enzima		Dieta C		Dieta F		eed	Nivel de significación		
		PEG-	PEG+	PEG-	PEG+		Dieta	PEG	DietaxPEG
HhaI	Nº de T-RF	35,0	36,0	29,5	32,5	2,60	t	ns	ns
	T-RF (pb)								
	100	23,2	22,8	13,1	12,6	7,18	ns	ns	ns
	203	3,52	2,06	0,41	0,37	0,847	*	ns	ns
	192	<0,001 ^c	<0,001 ^c	42,5 ^a	36,0 ^b	0,823	***	**	**
	216	11,4	10,9	13,5	15,5	9,06	ns	ns	ns
MspI	Nº de T-RF	97,0	93,5	38,5	46,5	11,89	**	ns	ns
	T-RF (pb)								
	91	3,52 ^b	3,13 ^b	3,72 ^b	5,06 ^a	0,385	*	ns	*
	96	13,6	14,4	12,2	13,7	5,416	ns	ns	ns
	152	0,11	0,06	2,61	2,20	0,103	***	*	t
	316	<0,001	<0,001	37,7	32,8	1,44	***	t	t

eed= error estándar de la diferencia; ns= no significativo ($P>0,10$); t= $P<0,10$; *= $P<0,05$; **= $P<0,01$; ***= $P<0,001$.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belenguer, A., Hervás, G., Toral, P. G. & Frutos, P. 2010. Proceedings of the 7th Symposium Rowett-INRA. Gut Microbiology: new insights into gut microbial ecosystems. p. 58. ● Hongoh, Y. H., Yuzawa, M., Okhuma, M. & Kudo, T. 2003. FEMS Microbiol. Lett. 221: 299-304. ● Makkar, H. P. S. 2003. A laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. ● Mauricio, R. M., Mould, F. L., Dhanoa, M. S., Owen, E., Channa, K. S. & Theodorou, M. K. 1999. Anim. Feed Sci. Technol. 79: 321-330. ● Odenyo, A. A., Bishop, R., Asefa, G., Jamnadass, R., Odongo, D. & Osuji, P. 2001. Anaerobe 7: 5-15. ● Yañez-Ruiz D. R., Soto, E. C., Newbold, C. J., & Molina Alcaide, E. 2009. Proceedings of the 13th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on Sheep and Goat Nutrition. p. 26.

EFFECT OF POLYETHYLENGLYCOL ON THE RUMEN BACTERIAL COMMUNITY: IN VITRO CULTURES WITH INOCULA FROM SHEEP FED ONLY FORAGE OR A CONCENTRATED-RICH DIET

ABSTRACT. In vitro batch cultures of rumen microorganisms were performed with or without polyethilenglycol (PEG) to study the effect of this tannin-binding agent on the rumen bacterial community. Six cannulated sheep were divided in two groups and fed only forage or a total mixed ration with 60% of concentrate. Rumen fluid was collected in two different days from these animals to obtain one inoculum per diet and day (4 in total) for the batch cultures of maize. After 22 h of incubation, microbial DNA was extracted and then analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism. The bacterial profiles clustered basically according to the day of rumen fluid collection and the diet, suggesting that the bacterial community structure was not affected by PEG. On the other hand, the relative frequency of some fragments varied with PEG addition. Thus, for instance, fragments compatible with *Butyrivibrio* spp., which may tolerate or even degrade tannins, showed a lower proportion with PEG. However, this effect was only significant with the inocula derived from animals fed forage. The remarkable differences between days in the rumen bacterial composition of the same sheep on the same diet, especially in those fed the total mixed ration, might have precluded the detection of further PEG effects on specific bacterial populations.

Keywords: molecular technique, rumen microbiota, tannin, T-RFLP.

EFFECTO DE EXTRACTOS DE TANINOS DE DIVERSAS LEGUMINOSAS SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE BACTERIAS FIBROLÍTICAS IN VITRO

R. Rodríguez¹, A. Britos², N. Rodríguez-Romero³, M. Fondevila

Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón,
Depto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, M. Servet
177, 50013 Zaragoza

¹ Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba; ² Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; ³ Universidad Nacional Experimental del Táchira, San Cristóbal, Venezuela
mfondev@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La suplementación de pastos de gramíneas con leguminosas arbustivas para incrementar el contenido de proteínas y energía en la dieta y con ello la productividad es una práctica común en la alimentación de rumiantes en el trópico. La presencia en las leguminosas de compuestos antinutricionales como los taninos afecta la disponibilidad de los nutrientes o incide directamente sobre los microorganismos ruminales. Sin embargo, estos compuestos pueden mejorar la eficiencia de utilización de la energía al reducir la metanogénesis, de modo que la utilidad de las leguminosas arbustivas como alimento depende del balance entre sus efectos positivos y negativos sobre la fermentación ruminal.

El efecto de los taninos de las leguminosas *Acacia cornigera* y *Albizia lebbekoides*, comparadas con *Leucaena leucocephala* ha sido previamente estudiado, pero sin distinguir los efectos del aporte de nutrientes y de los factores antinutricionales sobre la fermentación ruminal. Por ello, este trabajo pretende estudiar el efecto de los taninos extraídos de *A. cornigera*, *A. lebbekoides* y *L. leucocephala* sobre la actividad y concentración de especies bacterianas implicadas en la degradación de forrajes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras vegetales se recolectaron, secaron, molieron a 1 mm y preservaron en el Instituto de Ciencia Animal (Cuba). Posteriormente se enviaron a la Universidad de Zaragoza (España) para estudios in vitro. Los taninos de las leguminosas se extrajeron en una solución acetona:agua 70:30. Se incubaron in vitro muestras de *Pennisetum purpureum* (800 mg MS por botella), solo (PP) o con una cantidad de taninos extraídos de *A. cornigera* (AC), *A. lebbekoides* (AL) o *L. leucocephala* (LL), correspondiente a 240 mg de cada leguminosa. Además, se incubó el *P. purpureum* con 64 mg de quebracho (760 mg taninos totales /g MS) como control negativo (QT). Los tratamientos se incubaron por cuadruplicado en 80 ml de solución de incubación a 39°C y durante 48 horas. Como inóculo microbiano se utilizó líquido ruminal de dos ovejas canuladas en rumen, en una proporción de 0.20 del volumen de incubación. Después de las 12 y 24 h de incubación se detuvo la fermentación en una botella por tratamiento, y se muestreó líquido y residuo sólido. Las dos botellas restantes por tratamiento se abrieron al final de la incubación (48 h), para estimar la degradabilidad aparente in vitro de la MO (IVOMD). En el medio líquido de incubación se determinó la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV) por cromatografía de gases, y se estimó estequiométricamente la producción de metano (Demeyer 1991), asumiendo una recuperación del H₂ del 90%. A partir del residuo de incubación se extrajo el DNA mediante un kit comercial (QIAamp DNA Stool Mini Kit, QIAGEN Ltd., West Sussex, UK) tras tratamiento con Mini-Beadbeater (BioSpec Products, Bartlesville, USA). La concentración del gen 16S rDNA y la abundancia relativa (ΔC_t) de *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus albus* y *R. flavefaciens* en las muestras se analizó por PCR a tiempo real, empleando los cebadores diseñados por Yu et al. (2005), Koike y Kobayashi (2001) y Tajima et al. (2001). Los resultados se analizaron usando ABI Prism 7000 SDS software (Applied Biosystems, Foster City, USA).

Los resultados experimentales se contrastaron por ANOVA usando el paquete estadístico 9.0 (Analytical Software 2008), considerando cada tanda de incubación como bloque. Diferencias entre medias con $P < 0.05$ se compararon por el test LSD.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de taninos totales de las muestras originales de las leguminosas arbustivas, según el método de Folin-Ciocalteu, fue de 15.0, 83.9 y 61.3 mg/g MS para *A. cornigera*, *A. lebbekoides* y *L. leucocephala*, respectivamente.

La Tabla 1 muestra el efecto de la adición de los extractos de taninos de las leguminosas a estudio sobre distintos indicadores de la fermentación in vitro del *P. purpureum*, a las 12 y 24 h de incubación. Respecto a PP, la concentración total de AGV se redujo con AL y QT después de 12 h de incubación ($P < 0.01$), y la misma tendencia ($P = 0.06$) se observó con AC y AL tras 24 h, lo que indica un efecto depresor de la actividad fermentativa microbiana, de magnitud variable según el origen de los taninos, dado que la eficiencia de la acción de los taninos disminuye en el tiempo en función de su reactividad (Bueno et al., 2008). No se observó efecto de la inclusión de los extractos de taninos sobre las proporciones molares de los AGV a las 12 h ($P > 0.10$), pero a las 24 h tanto AC como AL redujeron la proporción de acetato e incrementaron la de propiónico, respecto a PP ($P < 0.05$), mientras que AL y QT redujeron la proporción de butírico respecto a PP ($P < 0.05$). En términos absolutos, a las 24 h la producción de metano disminuyó con AL y AC ($P < 0.01$), y tendió ($P = 0.08$) a reducirse con AL. La capacidad de los taninos de reducir la producción ruminal de metano recalca el potencial de las plantas taníferas para aumentar la eficiencia de la fermentación y disminuir el impacto ambiental de la producción de rumiantes. Al expresar la producción de metano por unidad de materia orgánica fermentable (MOF), a las 24 h de incubación ésta fue menor con AC y AL respecto a PP ($P < 0.01$), lo que demuestra que la respuesta está asociada tanto a la reactividad como a la concentración específica de taninos.

Tabla 1: Concentración (mmol/l) y proporciones molares de AGV, producción estimada de metano (CH_4) y concentración (ng DNA total/mg residuo fresco) y abundancia relativa (ΔC_i) de bacterias adheridas después de 12 y 24 h de incubación in vitro de *P. purpureum*, solo (PP) o con taninos extraídos de *L. leucocephala* (LL), *A. cornigera* (AC), *A. lebbekoides* (AL) o quebracho (QT).

	PP	LL	AC	AL	QT	E.E.M. ¹
12 h:						
AGV	38.2 a	35.3 ab	36.6 a	28.4c	33.0 b	1.17
Acetato	0.667	0.667	0.663	0.668	0.669	0.0055
Propionato	0.233	0.234	0.239	0.233	0.225	0.0037
Butirato	0.075	0.073	0.073	0.071	0.078	0.0015
CH_4 , mmol	0.66	0.61	0.62	0.50	0.59	0.026
CH_4 , ml/g MOF	3.13	3.12	3.09	3.14	3.18	0.037
Adh. bacteriana	113.2	134.9	141.4	98.5	87.4	13.87
<i>F. succinogenes</i>	9.94	9.64	9.51	9.96	6.33	0.910
<i>R. albus</i>	0.035 a	0.019 bc	0.017 bc	0.009 c	0.024 ab	0.0050
<i>R. flavefaciens</i>	0.0041	0.0026	0.0013	0.0013	0.0031	0.00050
24 h:						
AGV	42.6	39.3	38.4	36.2	40.5	1.36
Acetato	0.661ab	0.664 a	0.646 c	0.650 b	0.664 a	0.0040
Propionato	0.230 c	0.236 bc	0.242 ab	0.246 a	0.232 c	0.0027
Butirato	0.080 a	0.078 ab	0.081 a	0.077 b	0.077 b	0.0007
CH_4 , mmol	0.73 a	0.66 ab	0.62 bc	0.58 c	0.69 ab	0.005
CH_4 , ml/g MOF	3.13 a	3.10 a	3.01 b	3.00 b	3.13 a	0.024
Adh. bacteriana	90.3	76.03	85.31	69.12	72.69	7.521
<i>F. succinogenes</i>	12.59	15.45	12.91	18.62	21.39	2.606
<i>R. albus</i>	0.086 a	0.050 b	0.029 b	0.040 b	0.079 a	0.0070
<i>R. flavefaciens</i>	0.0007	0.0011	0.0007	0.0006	0.0012	0.00005

¹E.E.M.: error estándar de las medias.

Dentro de una misma fila, letras diferentes indican diferencias ($P < 0.05$).

No se observaron diferencias entre tratamientos en cuanto al efecto de los extractos de taninos sobre la concentración de bacterias totales por unidad de residuo a las 12 h ($P>0.10$), aunque a las 24 h tendió ($P=0.08$) a ser mayor con LL y AC respecto a QT. No obstante, es esperable un efecto negativo de los taninos sobre las bacterias fibrolíticas, bien directo o indirecto, en base a la restricción de nutrientes que implican. La abundancia relativa de *F. succinogenes* tendió ($P=0.08$) a disminuir con QT a las 12 h, pero no se registraron diferencias a las 24 h. La proporción de *R. albus* se redujo con LL, AC y AL respecto a PP, tanto a las 12 ($P<0.01$) como a las 24 h de incubación ($P<0.001$), mientras que no se observó efecto sobre *R. flavefaciens*. Este efecto selectivo, siendo *R. albus* la especie más afectada, se pudo deber a diferencias interespecíficas en cuanto a los mecanismos de adhesión al sustrato y patrón de fermentación (Koike y Kobayashi, 2009).

Nuestros resultados sugieren que los taninos de leguminosas afectan cualitativamente la fermentación de *P. purpureum*, como muestra el incremento en la proporción de propiónico a expensas de acetato, lo que además sugiere una reducción de la metanogénesis. No se apreció un efecto de los taninos sobre la adhesión bacteriana al sustrato, pero la concentración de *R. albus* parece ser sensible a la presencia de taninos, contrariamente a *F. succinogenes* y *R. flavefaciens*. La magnitud de esta respuesta cualitativa depende de la especie vegetal de origen, en función de la concentración y reactividad de sus taninos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bueno, I.C.S., Vitti, D.M.S.S., Louvandini, H., Abdalla, A.L. 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.* 141: 153-170
- Demeyer, D.I. 1991. In: J.P. Jouany (ed.), *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*, INRA, Paris, France, pp. 217-237
- Koike, S., Kobayashi, Y. 2001. *FEMS Microbiology Letters*, 204:361-366
- Tajima, K., Aminov, R.I., Nagamine, T., Matsui, H., Nakamura, M., Benno, Y. 2001. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 2766-2774
- Yu, Y., Lee, C., Kim, J., Hwang, S. 2005. *Biotechnol. Bioeng.* 89: 670-679.

EFFECT OF TANNINS EXTRACTED FROM SEVERAL LEGUMES ON IN VITRO CONCENTRATION OF FIBROLYTIC BACTERIA

ABSTRACT: To what extent bacterial fermentation and attachment is affected by tannins from tropical browse legumes was studied in vitro. A proportion of extracted tannins of *A. cornigera* (AC), *A. lebbekoides* (AL) and *L. leucocephala* (LL) were added to each bottle with 800 mg *P. purpureum* as substrate, and contrasted with *P. purpureum* alone (PP) or with 64 mg quebracho tannins (QT). Compared with PP, total VFA concentration was reduced with AL and QT after 12 h ($P<0.01$), and the same trend ($P=0.06$) was observed with AC and AL after 24 h. Acetate molar proportion at 24 h was reduced, and that of propionate increased, with AC and AL compared with PP ($P<0.05$), whereas AL and QT reduced butyrate proportion ($P<0.05$). Estimated methane concentration per unit of fermented organic matter after 24 h was lower with AC and AL than with PP ($P<0.01$). Proportion of *R. albus* was reduced with LL, AC and AL compared with PP at 12 ($P<0.01$) and 24 ($P<0.001$) h of incubation. Tannins extracted affected fermentation of *P. purpureum*, increasing propionate at the expense of acetate, in a largest extent with *A. lebbekoides*. No major effect on bacterial population attached to the substrate was detected, but concentration of *R. albus* seemed to be sensitive to tannins, whereas *F. succinogenes* and *R. flavefaciens* did not.

Keywords : extracted tannins, tropical legumes, rumen fermentation, bacterial attachment, fibrolytic bacteria.

ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DEL RUMEN DE VACAS, OVEJAS Y CABRAS EN PASTOREO

Belenguer, A.^{1,*}, Osoro, K.², Hervás, G.¹, Toral, P.G.¹, Celaya, R.², García, U.², Frutos, P.¹

¹ Instituto de Ganadería de Montaña, CSIC-ULE, Finca Marzanas, 24346 Grulleros, León.

² Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Área de Sistemas de Producción Animal, 33300 Villaviciosa, Asturias.

*correo electrónico: a.belenguer@eae.csic.es

INTRODUCCIÓN

En pastoreo, las vacas y las ovejas se caracterizan por consumir mayoritariamente especies vegetales con un alto contenido de pared celular, sobre todo las primeras (es decir, las vacas), mientras que las cabras incluyen en su dieta proporciones más elevadas de arbustos, gracias a su mayor capacidad de ramoneo y selección (Celaya et al., 2008). Este comportamiento tiene una influencia directa en la ecología microbiana del rumen y por tanto en la composición de su comunidad bacteriana, ya que esta está determinada esencialmente por la dieta consumida. A su vez, una diferente microbiota podría explicar una distinta capacidad de cada especie para utilizar determinados alimentos (por ejemplo, más o menos lignificados, con presencia o no de compuestos secundarios, etc.). Por ello, el objetivo de este trabajo fue estudiar la estructura de la comunidad bacteriana del rumen de animales de las tres especies de rumiantes domésticos más comunes (i. e., vacas, ovejas y cabras), que se encontraban en pastoreo en una misma parcela con vegetación mixta de brezal-tojal y pradera, mediante la utilización de una técnica molecular cualitativa, el polimorfismo de la longitud de los fragmentos terminales de restricción (T-RFLP).

MATERIAL Y MÉTODOS

En este experimento, se utilizaron 16 animales pertenecientes a 3 especies diferentes de rumiantes: 5 vacas, 6 ovejas y 5 cabras. Todos ellos se encontraban en pastoreo en una parcela experimental (22,3 ha) situada a 900-1000 m de altitud en el concejo de Illano (Asturias). La vegetación natural ocupaba el 76% de la superficie y consistía mayoritariamente en matorrales de brezal-tojal dominados por el brezo *Erica umbellata* y el tojo *Ulex gallii*. El resto de la superficie correspondía a un pasto sembrado de raigrás inglés (*Lolium perenne*) y trébol blanco (*Trifolium repens*), aunque dominado por la gramínea espontánea *Agrostis capillaris*. Tras un periodo de pastoreo de unos 2 meses y medio, en julio todos los animales fueron intubados mediante sonda esofágica para obtener muestras de fluido ruminal. Estas muestras fueron congeladas inmediatamente a -80°C y posteriormente liofilizadas para el estudio de la comunidad bacteriana.

El ADN del contenido ruminal liofilizado se extrajo siguiendo el método descrito por Yu y Morrison (2004), con la modificación de una mayor temperatura (95°C) en la lisis celular. Para el análisis mediante T-RFLP se utilizaron cebadores específicos para amplificar el gen del ARN ribosómico 16S bacteriano (Hongoh et al., 2003), estando uno de ellos marcado con 6-carboxifluoresceína. El producto de la PCR fue purificado, cuantificado y a continuación digerido (95 ng) utilizando la enzima de restricción *MspI* (10 U; 37°C, 12 h). Los productos de dicha digestión fueron de nuevo purificados y finalmente los fragmentos terminales de restricción (T-RF) se analizaron en un secuenciador capilar automático Megabace 500 (Amersham Biosciences, Reino Unido), utilizando 22 fragmentos de entre 50 y 550 pares de bases (pb) como patrones.

El perfil de picos se analizó mediante el programa GeneMarker (Softgenetics, EE. UU.) y tras estandarizar los datos se procedió a la construcción de un dendrograma, utilizando el método Ward's y las distancias Jaccard, y al análisis de porcentajes de similitud (SIMPER), que emplea las distancias Bray-Curtis. con el programa informático Community Analysis Package 4 (Pisces Conservation Ltd., Reino Unido). El análisis estadístico de los índices de diversidad (número de T-RF e índice Shannon) y de los porcentajes del área de ciertos fragmentos sobre el área total de los picos obtenidos se realizó mediante análisis de varianza, utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.1. (SAS Institute Inc., EE. UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como se esperaba, la estructura de la comunidad bacteriana del rumen mostró diferencias considerables entre las tres especies de rumiantes (ver Figura 1). De acuerdo con un estudio previo realizado por Celaya et al. (2008) en la misma parcela utilizada, durante el mes de julio, la dieta seleccionada por las vacas y las ovejas incluye mayoritariamente especies herbáceas (>90%), las cuales son más ricas que los brezos y los tojos en hidratos de carbono estructurales como la hemicelulosa. Estos últimos, a su vez, presentan un contenido superior de lignina y son consumidos en una mayor proporción por el ganado caprino (≈21 y 10% de brezos y tojos, respectivamente). Estos resultados coinciden con las diferencias en la estructura de la comunidad bacteriana entre las tres especies, ya que el porcentaje de similitud fue superior entre las vacas y las ovejas (46%) que entre las cabras y las ovejas (37%) o las cabras y las vacas (34%), lo que apunta claramente al efecto de la dieta sobre las variaciones en la microbiota. Además, los índices de diversidad también mostraron diferencias significativas entre especies (Tabla 1), siendo inferiores en el caprino, lo que posiblemente sugiera una mayor especialización bacteriana (Dehority, 2003).

Tabla 1.- Índices de diversidad (número de T-RF e índice Shannon) y frecuencias relativas sobre el área total de picos (%) de algunos T-RF de diferente longitud (pares de bases, pb) obtenidos a partir de los resultados de T-RFLP en vacas, ovejas y cabras que se encontraban en pastoreo en una misma parcela.

	Bacterias compatibles	Vacas	Ovejas	Cabras	eed	P
N.º de T-RF		51,4 ^a	53,0 ^a	37,4 ^b	4,62	**
Índice Shannon		3,36 ^a	3,23 ^a	2,76 ^b	0,126	***
T-RF (pb)						
85	Bacteroidetes	0,16 ^b	5,05 ^a	0,08 ^b	1,217	**
315	Lachnospiraceae (Butyrivibrio)	1,66 ^a	1,15 ^a	0,00 ^b	0,264	***
475	Firmicutes	1,25 ^a	0,79 ^a	0,00 ^b	0,244	***
484	Clostridiales	3,36 ^a	0,78 ^a	0,00 ^b	0,598	***
531	Clostridiaceae	6,64 ^a	1,25 ^b	0,37 ^b	1,396	**
540	Clostridiaceae	0,00 ^b	0,00 ^b	3,04 ^a	0,800	**
545	Bacteroidetes / Lactobacillus	0,40 ^b	1,70 ^b	17,95 ^a	1,708	***

eed, error estándar de la diferencia; P, nivel de significación del efecto de la especie.

=P<0,01; *=P<0,001. ^{a, b, c}, distintos superíndices en la misma fila indican diferencias significativas.

También se observaron diferencias significativas en la frecuencia relativa de algunos T-RF (Tabla 1) que podrían estar relacionadas con la dieta consumida. En este sentido, destaca la mayor abundancia relativa del fragmento de 545 pb observada en las cabras (casi un 18%). Mediante el uso de la base de datos Ribosomal Database Project II, es posible hacer una asignación teórica de especies o grupos bacterianos a los fragmentos detectados, aunque un mismo fragmento podría corresponder a varias especies, por lo que esta inferencia debe considerarse con cautela. Así, el T-RF de 545 pb es compatible con bacterias no cultivadas de la división Bacteroidetes, lo que podría estar relacionado con la mayor ingestión de taninos presentes en el brezo, ya que se sabe que algunas especies de este grupo son resistentes a dichos compuestos secundarios (McSweeney et al., 2000). Además, este fragmento también puede proceder de especies del género *Lactobacillus*, que parecen estar favorecidas por la presencia de lignina en la dieta (Baurhoo et al., 2007).

Por otra parte, en el fluido ruminal de las cabras no se detectaron tres T-RF (315, 475 y 484 pb) que sí aparecieron en ovejas y vacas y que podrían provenir de bacterias hemicelulolíticas, como es el caso del de 315 pb. Este T-RF es compatible con especies no cultivadas de la familia Lachnospiraceae, por ejemplo del género *Butyrivibrio*, algunas de las cuales son muy activas en la degradación de la hemicelulosa (Dehority, 2003).

Otros fragmentos mostraron igualmente diferencias importantes entre vacas, ovejas y cabras, lo que podría deberse no sólo a la dieta, sino también a ciertas diferencias

funcionales derivadas de la distinta adaptación evolutiva de estas especies (Hofmann, 1989). Aunque esta hipótesis no puede ser comprobada con el diseño de este estudio, sería de incuestionable interés poder continuar la investigación, comparando las estructuras de las comunidades bacterianas del rumen cuando estas tres especies de rumiantes consumen exactamente la misma dieta.

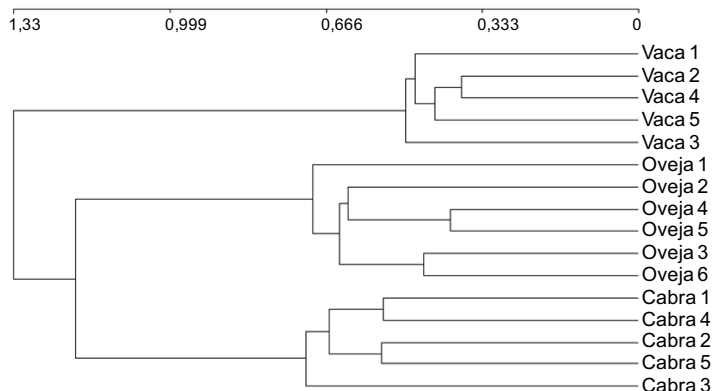


Figura 1. Dendrograma obtenido utilizando el método Ward's y las distancias Jaccard a partir del análisis mediante T-RFLP del ADN extraído de fluido ruminal de vacas, ovejas y cabras en pastoreo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baurhoo, B., Phillip, L. & Ruiz-Feria, C.A. 2007. *Poult. Sci.* 86: 1070–1078.
- Celaya R, Benavides R., García U., Ferreira L. M. M., Ferre I., Martínez A., Ortega-Mora L. M. & Osoro K. 2008. *Animal* 2: 1818-1831.
- Dehority, B. A. 2003. *Rumen Microbiology* (Ed Dehority B. A.) Nottingham University Press, Nottingham, Reino Unido.
- Hofmann, R. R. 1989. *Oecologia* 78: 443-457.
- Hongoh, Y. H., Yuzawa, M., Okhuma, M. & Kudo, T. 2003. *FEMS Microbiol. Lett.* 221: 299-304.
- McSweeney C. S., Palmer B. & Krause D. O. 2000. *Proceedings of an International Workshop, Adelaide, Australia. ACIAR Proceedings No. 92'*. (Ed. Brooker J. D.) p. 140–145.
- Yu, Z. & Morrison, M. 2004. *BioTechniques* 36: 808-812.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA, Proyecto RTA2007-00098-C03).

BACTERIAL COMMUNITY STRUCTURE IN THE RUMEN OF GRAZING CATTLE, SHEEP AND GOATS

ABSTRACT: The rumen bacterial community structure was studied in cattle, sheep and goats that were managed in mixed grazing on a big plot with about 76% of short heather–gorse shrubland and 24% of improved pasture. After a grazing period of approximately 2.5 months, rumen samples were obtained via a stomach tube, and DNA was extracted and analyzed by terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP). Bacterial profiles differed clearly among the three species, with a greater similarity percentage between cattle and sheep. This agrees with the known strong relationship between diet and bacterial composition, and with previous studies on the same plot showing that these two species consume more herbaceous plants and less shrubs than goats. Furthermore, goats' rumen bacterial community presented a lower diversity and significant differences in the relative frequencies of some fragments, such as a greater proportion of one that may match *Bacteroidetes* species potentially resistant to tannins. On the other hand, a peak compatible with bacteria of the genus *Butyrivibrio*, which include microorganisms that are very active in degrading hemicellulose, only appeared in sheep and cattle.

Keywords: molecular technique, rumen bacteria, ruminant, T-RFLP.

EVOLUCIÓN POSTPRANDIAL DE LA DIVERSIDAD DE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DEL RUMEN DE OVEJAS

Saro, C., Carro, M.D y Ranilla, M.J..

Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071, León. IGM (CSIC-ULE).
Finca Marzanas, s/n. 24348, Grulleros, León (cristina.saro@unileon.es)

INTRODUCCIÓN

La fase sólida del rumen es conocida por ser la de mayor capacidad para degradar la pared celular de los alimentos (Michalet-Doreau et al., 2001). Varios trabajos han estudiado cómo afecta a la diversidad bacteriana el cambio de la proporción forraje:concentrado en la dieta (Wanapat et al., 2009; Julien et al., 2010), pero no hay estudios acerca del efecto del tipo de forraje en la misma. Las técnicas moleculares son una herramienta muy valiosa para este tipo de estudios, ya que permiten caracterizar una muestra de una manera rápida y sencilla. El objetivo de este estudio fue evaluar cómo afecta el tipo de forraje en la dieta y el tiempo de muestreo a la comunidad bacteriana en la digesta sólida del rumen mediante análisis automático de los fragmentos interribosomales (ARISA).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 ovejas merinas ($58,3 \pm 3,27$ kg) canuladas en el rumen en un diseño cruzado. Se formularon 2 dietas experimentales con una relación forraje:concentrado de 70:30, siendo el forraje heno de alfalfa (AL) o heno de gramínea (GR). Las dietas fueron administradas a los animales a nivel restringido (56 g materia seca (MS)/kg peso vivo^{0,75}) para minimizar la selección del alimento, en dos tomas iguales diarias (8:00 y 20:00 h). Tras 15 días de adaptación a la dieta se tomaron muestras del contenido ruminal inmediatamente antes (0 h) y 4 y 8 horas tras la administración de la primera toma de alimento en dos días no consecutivos. El contenido ruminal se filtró por dos capas de gasa y la parte sólida se congeló inmediatamente a -80°C para posteriormente liofilizarla. Las muestras procedentes de los dos días se mezclaron por oveja y hora de muestreo antes de su análisis.

La extracción del ADN se realizó partiendo de 120 mg de material sólido del rumen liofilizado siguiendo el método propuesto por Yu y Morrison (2004). Para el ARISA el ADN extraído se amplificó usando los cebadores bacterianos universales 16S-1392f y 23S-123r (Danovaro et al., 2006) que amplifican la región en el operón ITS1 del ARNr. El cebador inverso fue marcado con el fluorocromo 6-FAM. Cada mezcla de PCR (25 μL volumen final) contenía tampón de reacción de PCR 1x, 1,5 mM, MgCl_2 , 0,25 μM de cada cebador, cada desoxinucleótido trifosfato en una concentración de 0,2 mM y 2,5 UI de Taq polimerasa (Biotools B&M Labs S.A., Madrid, España). La PCR se realizó en un termociclador 2720 (Applied Biosystem, Foster City, CA, Estados Unidos), y se inició con un ciclo de desnaturalización inicial (94°C , 240 s) seguido de 30 ciclos de desnaturalización (94°C , 60 s), anillamiento (55°C , 60 s) y elongación (72°C , 120 s), con un paso final de extensión a 72°C durante 120 s. El tamaño y calidad de los productos de PCR se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1%.

Para cada muestra, 5 ng de amplicón se mezclaron con un estándar interno de tamaño (GS 1200 LIZ, Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) en formamida desionizada, después se desnaturalizaron a 94°C durante 4 min e inmediatamente se colocaron en hielo. La detección automática de los fragmentos del ARISA se llevó a cabo usando un secuenciador ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos) con un capilar de 36 cm por 50 μm y el polímero POP-7 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos). El tamaño del pico y su área fueron estimados por comparación con el estándar interno de tamaño usando el software GeneMaker v1.80 (SoftGenetics, State College, PA, Estados Unidos). Con el fin de incluir el máximo número de picos y estandarizar los electroferogramas, se utilizó un umbral de 100 unidades de fluorescencia y se consideró que el perfil de los picos de los electroferogramas reflejó las especies o comunidades bacterianas predominantes presentes en cada muestra. Se calculó el índice de diversidad de Shannon (Shannon, 1949) para cada grupo de muestras y este índice fue utilizado para evaluar la diversidad de las comunidades bacterianas. La matriz de datos con la presencia o ausencia (1 y 0, respectivamente) de picos para las muestras recogidas a cada tiempo de muestreo se sometió a un análisis de componentes principales (PCA).

Los datos referentes al número de picos en el ARISA y el índice de Shannon se sometieron a un análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El tipo de forraje, el tiempo de muestreo y el período fueron considerados efectos fijos, mientras que la oveja se consideró efecto aleatorio. El nivel de significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fue imposible obtener ADN de calidad suficiente para la PCR a partir de la digesta del muestreo de la hora 0 en una oveja cuando recibió heno de gramíneas, a pesar de los repetidos intentos de extracción. En total se detectaron 109 filotipos, de los cuales, 17 estuvieron presentes únicamente en las digestas de los animales que recibieron la dieta AL y 7 en las de los que recibieron la dieta GR. El número de filotipos detectado (Tabla 1) fue mayor ($P=0,015$) cuando las ovejas recibían la dieta AL que cuando se les administraba la dieta GR (44,7 y 35,6, respectivamente). Para ambas dietas, el número de filotipos detectado a las 4 horas tras la ingestión de alimento fue menor ($P < 0,05$) que el observado a las 0 y 8 horas, sin que existieran diferencias ($P > 0,05$) entre las 0 y 8 horas. Los índices de Shannon obtenidos con la dieta AL fueron mayores ($P < 0,05$) que los observados con la dieta GR, lo que indicaría que el heno de alfalfa dio lugar a una mayor diversidad bacteriana.

Las ovejas 1, 2 y 3 presentaron valores medios de índice de Shannon similares para las dos dietas (3,90, 3,84 y 3,88 para la dieta AL, y 3,66, 3,58 y 3,44 para la dieta GR), pero la oveja 4 mostró valores inferiores (3,61 y 3,22 para las dietas AL y GR, respectivamente). Estos resultados están de acuerdo con observaciones previas la variabilidad individual observada por otros autores (Wanapat et al., 2009; Julien et al., 2010).

Tabla 1. Efecto del tipo de forraje (FOR) y tiempo de muestreo tras la administración de alimento (T) sobre el índice de Shannon y número de filotipos en el análisis ARISA de la digesta ruminal sólida de ovejas alimentadas con dietas con relación forraje:concentrado 70:30 y heno de alfalfa (AL) o heno de gramíneas (GR) como forraje.

Parámetro y dieta	T (horas)			EEM ¹	Valor de P		
	0	4	8		FOR	T	FOR x T
Número de filotipos							
AL	50,8 ^a	33,3 ^b	50,0 ^a	4,014	0,015	<0,001	0,612
GR	45,5 ^a	20,0 ^b	41,3 ^a				
Índice de Shannon							
AL	3,91 ^a	3,62 ^b	3,89 ^{ab}	0,095	<0,001	<0,001	0,045
GR	3,78 ^a	2,99 ^b	3,66 ^a				

¹ error estándar de la media.

^{a,b} En la misma fila, valores con diferente superíndice difieren ($P < 0,05$)

El análisis de componentes principales sugiere similares diferencias en la composición de las comunidades bacterianas entre dietas apuntada anteriormente, especialmente en algunos tiempos de muestreo (Figura 1). En general, las muestras de las digestas de los animales alimentados con la dieta AL tienden a agruparse por encima del eje 1, y las de la dieta GR por debajo de dicho eje. Además, las muestras AL tienden a situarse más concentradas que las GR, sobre todo a las 4 y 8 horas tras la comida, lo que sugiere una mayor similitud entre las comunidades bacterianas. A las 4 horas tras la ingestión de alimento se advierte una clara separación espacial entre las comunidades AL y GR, lo que indica una clara diferencia en composición entre las mismas.

Estos resultados indican una influencia clara del tipo de forraje sobre la estructura de las comunidades bacterianas de la digesta sólida del rumen de ovejas. Sin embargo, los cambios postprandiales observados fueron similares para las dos dietas, e indicarían una menor diversidad de las comunidades bacterianas en las primeras horas tras la ingestión de alimento que en periodos de tiempo posteriores. En efecto, los electroferogramas de las

muestras correspondientes a la hora 4 presentaron un menor número de picos, pero, en general, de mayor altura que los detectados a las 0 y 8 horas.

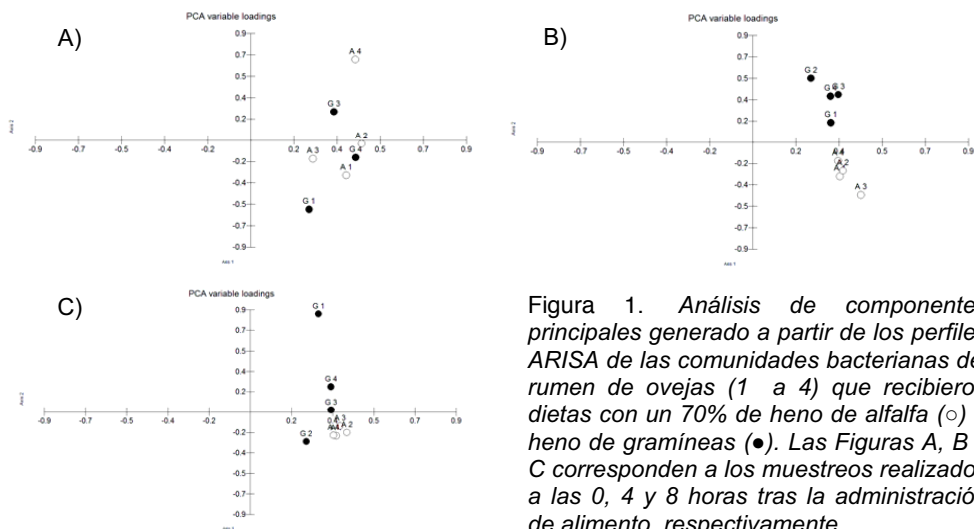


Figura 1. Análisis de componentes principales generado a partir de los perfiles ARISA de las comunidades bacterianas del rumen de ovejas (1 a 4) que recibieron dietas con un 70% de heno de alfalfa (○) o heno de gramíneas (●). Las Figuras A, B y C corresponden a los muestreos realizados a las 0, 4 y 8 horas tras la administración de alimento, respectivamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Danovaro, R., G. M. Luna, A. Dell'Anno, and B. Pietrangeli. 2006. Comparison of two fingerprinting techniques, terminal restriction fragment length polymorphism and automated ribosomal intergenic spacer analysis, for determination of bacterial diversity in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(9): 5982-5989.
- Julien, C., J. P. Marden, C. Bonnefont, R. Moncoulon, E. Auclair, and V. Monteils. 2010. Effects of varying proportions of concentrates on ruminal-reducing power and bacterial community structure in dry dairy cows fed hay-based diets. *Animal.* 4(10): 1641.
- Michalet-Doreau, B., I. Fernandez, C. Peyron, L. Millet, and G. Fonty. 2001. Fibrolytic activities and cellulolytic bacterial community structure in the solid and liquid phases of rumen contents. *Reprod. Nutr. Dev.* 41(2): 187-194.
- Shannon, C. E., and W. Weaver. 1949. *The mathematical theory of communication.* Urbana, IL, USA, University of Illinois Press.
- Wanapat, M., and A. Cherdthong. 2009. Use of real-time PCR technique in studying rumen cellulolytic bacteria population as affected by level of roughage in swamp buffalo. *Curr. Microbiol.* 58(4): 294-299.
- Yu, Z., and M. Morrison. 2004. Improved extraction of PCR-quality community DNA from digesta and fecal samples. *Biotechniques.* 36: 808-812.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyectos AGL-2004-04755-CO2-01 y AGL2008-04707-CO2-02). C. Saro disfruta de una beca FPU del MEC (AP 2006-03049).

POSTPRANDIAL EVOLUTION OF BACTERIAL COMMUNITY DIVERSITY IN THE RUMEN OF SHEEP

ABSTRACT: The aim of this work was to analyze the effects of forage type (alfalfa and grass hay) and time after feeding on the bacterial communities in ruminal solid digesta from sheep. In order to study bacterial diversity, DNA was isolated from samples of solid digesta sampled 0, 4 and 8 hours after feeding, and the ITS1 region of rDNA operon was amplified by PCR and analyzed by ARISA. A total of 109 peaks were detected in the ARISA electropherograms across the full set of 24 samples. Bacterial diversity, as assessed by Shannon index, was greater ($P < 0.001$) for AL compared with GR diets. For both diets, bacterial diversity at 0 and 8 hours after feeding was greater ($P < 0.05$) than that at 4 h post-feeding.

Keywords: ruminal bacterial community, ARISA, sheep

DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA EN LAS FASES LÍQUIDA Y SÓLIDA DE LA DIGESTA DEL RUMEN DE OVEJAS ALIMENTADAS CON DOS DIETAS FORRAJERAS

Saro, C., Ranilla, M.J. y Carro, M.D.

Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071, León. IGM (CSIC-ULE).

Finca Marzanas, s/n. 24348, Grulleros, León (mdcart@unileon.es)

INTRODUCCIÓN

La proporción de bacterias asociadas a la fase sólida del contenido ruminal puede ser afectada por diversos factores, entre los que destaca la dieta que reciben los animales. Diversos estudios han demostrado que en dietas con elevado contenido en forraje hay mayor cantidad de microorganismos asociados a la fibra del alimento (Yang et al., 2001; Ranilla and Carro, 2003) o que varían las proporciones en función del tiempo que haya transcurrido desde la alimentación (Craig et al., 1987). Sin embargo, no existe información sobre cómo puede afectar el tipo de forraje en la dieta a la asociación de los microorganismos a la fibra. La PCR en tiempo real (rtPCR) es una técnica muy útil para estimar de una manera precisa la cantidad de ADN microbiano que se encuentra en una muestra. El objetivo de este trabajo fue estudiar, mediante rtPCR, cómo está influida la distribución de las comunidades bacterianas en las fases líquida y sólida del rumen por el tipo de forraje en la dieta y el tiempo tras la administración del alimento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 ovejas merinas ($58,3 \pm 3,27$ kg) canuladas en el rumen en un diseño cruzado. Se formularon 2 dietas experimentales con una relación forraje:concentrado de 70:30 siendo el forraje heno de alfalfa (AL) o heno de gramínea (GR). El contenido en proteína bruta y fibra neutro-detergente de la dieta AL fue de 186 y 426 g/kg de materia seca (MS), respectivamente, y el de la dieta GR de 121 y 499 g/kg MS. Las dietas fueron administradas a los animales a nivel restringido (56 g MS/kg peso vivo^{0,75}), para minimizar la selección del alimento, en dos tomas diarias iguales (8:00 y 20:00 h). Tras 15 días de adaptación a la dieta se tomaron muestras del contenido ruminal inmediatamente antes (0 h) y 4 y 8 horas tras la administración de la primera toma de alimento en dos días no consecutivos. Una muestra (50 g) se secó en estufa para determinar el contenido en MS. El resto se filtró a través de dos capas de gasa para separar y las fracciones líquida y sólida. A continuación se tomaron muestras del contenido sólido (10 g) y líquido (5 mL) y se congelaron a -80°C hasta la extracción del ADN.

Las muestras líquidas se descongelaron, se centrifugó 1 mL ($13000 \times g$, 15 minutos) y se utilizó el pellet obtenido para la extracción de ADN. Las muestras de sólido (120 mg) y los pellets obtenidos de las muestras líquidas se mezclaron con un buffer de lisis y se trataron durante 3 minutos en un Mini-Beadbeater (Biospec Products, Bartlesville, OK, EEUU) para provocar la lisis de los microorganismos ruminales. Posteriormente, la extracción de ADN se llevó a cabo según el procedimiento descrito por Yu y Morrison (2004) y utilizando el kit QIAamp DNA stool (QIAGEN, Valencia, España), pero incluyó un paso adicional en el que las muestras se trataron con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) para eliminar inhibidores de la PCR. Se utilizaron primers previamente validados para el ADN codificante del gen del ribosoma 16S bacteriano (Denman y McSweeney, 2006). Como estándares se utilizaron pellets de bacterias asociadas a la fase sólida y líquida que se aislaron del rumen de las ovejas siguiendo los procedimientos descritos por Ramos et al. (2009). El ADN extraído se diluyó 1:10 antes de realizar los análisis de rtPCR en un ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido). Las condiciones de PCR fueron: 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos de 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto, seguidos de una curva de desnaturalización. Cada mezcla de PCR (20 μL) contenía: 10 μL de Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido), 0,9 μL de cada primer, 2 μL de muestra de ADN y agua destilada hasta un volumen final de 20 μL . Los valores obtenidos se analizaron con el software StepOne versión 2.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU).

La concentración de ADN bacteriano (ADNb) en la digesta ruminal se calculó como la suma de la concentración de ADNb en la digesta sólida y en el contenido líquido, teniendo en cuenta el contenido en MS de la digesta. Los resultados obtenidos para cada fase ruminal (digesta total, fase sólida y fase líquida) se analizaron independientemente. Los datos se

sometieron a un análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El tipo de forraje, el tiempo de muestreo y el período fueron considerados efectos fijos, mientras que la oveja se consideró efecto aleatorio. La significación estadística se estableció a $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las cantidades de ADN extraído de las muestras de contenido sólido fueron 68, 261 y 83 $\mu\text{g/g MS}$ a las 0, 4 y 8 horas para la dieta AL, y 105, 301 y 171 $\mu\text{g/g MS}$ para la dieta GR (valores no mostrados), valores que están en el rango de los obtenidos en otros estudios (Sharma et al., 2003; Yu y Morrison, 2004). Para las dos dietas, fueron mayores ($P < 0,001$) a las 4 que a las 0 horas post-ingestión, sin que existiesen diferencias ($P > 0,05$) entre las concentraciones a las 0 y 8 h post-ingestión. Las relaciones A_{260}/A_{280} en las muestras del contenido sólido oscilaron entre 1,70 y 1,98, y no se vieron afectadas por el tiempo de muestreo ($P = 0,861$) ni por el tipo de forraje ($P = 0,550$). Las cantidades de ADN extraído del líquido ruminal fueron 2,57, 2,11 y 3,34 $\mu\text{g/mL}$ a las 0, 4 y 8 horas post-alimentación para la dieta AL, y 2,15, 2,06 y 3,12 $\mu\text{g/mL}$ para la dieta GR (valores no mostrados), y no se observaron diferencias entre dietas ($P = 0,373$). Estos valores son similares a los indicados por Broudiscou et al., 1998, quienes obtuvieron entre 2,6 y 4,0 μg de ADN/mL de líquido ruminal de ovejas utilizando diferentes métodos de extracción. No hubo diferencias ($P = 0,352$) en la cantidad de ADN extraído entre las 0 y 4 horas post-ingestión, pero la cantidad de ADN fue mayor a las 8 horas post-ingestión que a las 0 y 4 h ($P < 0,05$). Las relaciones A_{260}/A_{280} en las muestras del líquido ruminal oscilaron entre 1,62 y 2,00, y no se vieron afectadas por la dieta ($P = 0,475$) ni por el tiempo de muestreo ($P = 0,114$). En los análisis de rtPCR, los valores medios para la curva estándar de las bacterias asociadas a la fase sólida fueron -3,382 para la pendiente y 0,998 para el coeficiente de regresión, y para las bacterias asociadas a la fase líquida -3,325 y 0,993. Las eficiencias medias de la PCR fueron 97,6% y 98,3% para las muestras de las fases sólida y líquida, respectivamente.

Como puede observarse en la Tabla 1, el porcentaje de MS de la digesta ruminal no sufrió variaciones con el tipo de forraje en la dieta ($P = 0,634$), pero fue más alto ($P < 0,05$) a las 4 horas post-alimentación que a las 0 y 8 horas, posiblemente debido al alimento ingerido. El contenido de ADN_b de la fase sólida varió de 180 a 290 $\mu\text{g/g MS}$, y no existieron diferencias ($P = 0,664$) entre dietas. En cambio, la concentración de ADN_b en el sólido a las 4 horas tras la alimentación fue menor ($P < 0,05$) que a las 0 y 8 horas, pudiendo ser debido al efecto de dilución del alimento ingerido y al lapso de tiempo que tardan los microorganismos asociados a la fibra en colonizarla y comenzar a reproducirse. En cuanto al contenido en ADN_b en la fase líquida, los resultados observados son similares al caso de la fase sólida, no existiendo variación entre dietas pero sí una marcada diferencia entre los valores a las 4 y las 0 y 8 horas ($P = 0,013$ y $0,002$ respectivamente). Estos resultados podrían ser debidos a la migración de bacterias de la fase líquida para adherirse a las partículas de alimento en las primeras horas post-alimentación y están en consonancia con los cambios observados en otros estudios (Leedle et al., 1982). Como consecuencia de estos cambios, la cantidad de ADN_b en la digesta total fue menor ($P < 0,05$) a las 4 horas, que a las 0 y 8 horas.

Para las dos dietas y los tres tiempos de muestreo, la cantidad de ADN_b fue mayor ($P < 0,001$) en la fase sólida que en la líquida, y las bacterias de la fase sólida representaron entre el 82,3% y el 91,6% del total de bacterias en la digesta ruminal. Estos valores están en el rango de los observados por otros autores (Craig et al., 1987; Yang et al., 2001) utilizando diferentes metodologías de medida, y confirman que las bacterias asociadas a la fase sólida representan un porcentaje mayoritario de las bacterias ruminales en animales alimentados con dietas forrajeras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Broudiscou, L., H. Geissler, and A. Broudiscou. 1998. *Anaerobe*. 4(3): 145-152.
- Craig, W. M., G. A. Broderick, and D. B. Ricker. 1987. *The Journal of Nutrition*. 117(1): 56-62.
- Denman, S. E., and C. S. McSweeney. 2006. *FEMS Microbiol. Ecol.* 58(3): 572-582.
- Leedle, J. A., M. P. Bryant, and R. B. Hespell. 1982. Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animals fed low- or high-forage diets. *Appl. Environ. Microbiol.* 44(2): 402-412.
- Ramos, S., M. L. Tejido, M. J. Ranilla, M. E. Martínez, C. Saro, and M. D. Carro. 2009. *J. Dairy Sci.* 92(11): 5659-5668.
- Ranilla, M. J., and M. D. Carro. 2003. *J. Anim. Sci.* 81(2): 537-544.
- Sharma, R., S. J. John, M. Damgaard, and T. A.

McAllister. 2003. *Biotechniques*. 34: 92-97. • Yang, W. Z., K. A. Beauchemin, and L. M. Rode. 2001. *J. Anim. Sci.* 79(10): 2736-2746. • Yu, Z., and M. Morrison. 2004. *Biotechniques*. 36: 808-812.

Tabla 1. Efecto del tipo de forraje (FOR) y tiempo de muestreo tras la administración de alimento (T) en el contenido en materia seca (MS) y la cantidad de ADN bacteriano (ADNb) del contenido ruminal de ovejas alimentadas con dietas con relación forraje:concentrado 70:30 y heno de alfalfa (AL) o heno de gramíneas (GR) como forraje.

Parámetro y dieta	T (horas)			EEM	Valor de P		
	0	4	8		FOR	T	FOR x T
MS (%)							
AL	22,8 ^a	24,5 ^b	23,2 ^{ab}	0,54	0,634	0,013	0,963
GR	23,0 ^a	24,9 ^b	23,3 ^{ab}				
ADNb en el contenido ruminal (µg ADNb / g materia fresca)							
AL	75,3 ^a	48,0 ^b	68,5 ^{ab}	7,13	0,843	0,008	0,968
GR	72,3 ^a	48,7 ^b	67,3 ^{ab}				
ADNb en el contenido sólido (µg ADNb / g materia seca)							
AL	290 ^a	179 ^b	245 ^{ab}	26,7	0,664	0,008	0,868
GR	265 ^a	180 ^b	241 ^a				
ADNb en el líquido ruminal (µg ADNb / mL)							
AL	12,3 ^a	5,78 ^b	14,8 ^a	1,621	0,895	<0,001	0,750
GR	13,4 ^a	4,32 ^b	14,7 ^a				
% ADN bacteriano en la MS							
AL	87,7 ^{ab}	91,3 ^a	83,9 ^b	2,15	0,378	0,006	0,690
GR	84,3 ^a	91,6 ^b	82,3 ^a				

^{a,b} En la misma fila, valores con diferente superíndice difieren (P<0,05)

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyectos AGL-2004-04755-CO2-01 y AGL2008-04707-CO2-02) y la Junta de Castilla y León (Proyecto GR158). C. Saro disfruta de una beca FPU del MEC (AP 2006-03049).

DISTRIBUTION OF BACTERIAL POPULATION IN LIQUID AND SOLID DIGESTA IN THE RUMEN OF SHEEP FED TWO FORAGE DIETS

ABSTRACT: Four cannulated merino sheep were used to evaluate the effects of two diets (AL: 70:30 alfalfa hay:concentrate; GR: 70:30 grass hay:concentrate) and the sampling time (0, 4 and 8 hours post-feeding) on the distribution of bacteria between the liquid and solid phase in ruminal digesta. Real time PCR was used to measure bacterial DNA (DNAb) concentration in both phases. Forage type did not affect DNAb concentration in the solid (P=0.664), the liquid (P=0.895) or total (P=0.843) ruminal digesta. Amount of DNAb at 4 hours post-feeding was lower than just before feeding in both the solid and liquid digesta (P<0.05 and 0.001 respectively), but recovered initial values at 8 hours post feeding. This may have been due to the lag time that takes bacteria to attach fiber particles. Proportion of bacteria in the solid digesta ranged from 82.6% to 91.3% of total ruminal bacteria, and was higher (P<0.05) at 4 hours compared with that at 0 and 8 hours post-feeding. These results confirm that solid-associated bacteria represent the major proportion of ruminal bacteria in ruminants fed forage diets, and indicate that forage quality has no influence on their relative proportion.

Keywords: solid-associated bacteria, rumen, rtPCR

CUANTIFICACIÓN DE PROTOZOOS EN EL FLUIDO RUMINAL MEDIANTE RECUESTO EN CÁMARA Y PCR EN TIEMPO REAL

Saro, C., Ranilla, M.J. y Carro, M.D.

Departamento de Producción Animal. Universidad de León. 24071, León. IGM (CSIC-ULE).
Finca Marzanas, s/n. 24348, Grulleros, León (mdcart@unileon.es)

INTRODUCCIÓN

Diversos factores, como la relación forraje:concentrado, el tipo de forraje o el nivel de alimentación influyen en la población de protozoos del rumen (Dehority y Orpin, 1997). La forma tradicional de determinar la concentración de protozoos en el líquido ruminal ha sido realizar recuentos de los mismos en una cámara de recuento. En la actualidad existen técnicas moleculares con las cuales es fácil y rápido el cuantificar el número de copias de un gen en una muestra, y estas técnicas han sido adaptadas para la cuantificación de los protozoos ruminales (Sylvester et al., 2004). Sin embargo no existen estudios que hayan comparado ambas técnicas para el conteo de protozoos en el líquido ruminal. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los resultados obtenidos realizando la cuantificación de protozoos mediante PCR en tiempo real (qPCR) comparándolos con el método del recuento.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 4 ovejas merinas ($58,3 \pm 3,27$ kg) canuladas en el rumen en un diseño cruzado. Se formularon 2 dietas experimentales con una relación forraje:concentrado de 70:30 siendo el forraje heno de alfalfa (AL) o heno de gramínea (GR). El contenido en proteína bruta y fibra neutro-detergente de la dieta AL era de 186 y 426 g/kg de materia seca (MS), respectivamente, y el de la dieta GR de 121 y 499 g/kg MS. Las dietas fueron administradas a los animales a nivel restringido (56 g MS/kg PV^{0,75}), para minimizar la selección del alimento, en dos tomas iguales diarias (8:00 y 20:00 h). Tras 15 días de adaptación a la dieta se tomaron muestras del contenido ruminal inmediatamente antes (0 h) y 4 y 8 horas tras la misma administración de la primera toma de alimento en dos días no consecutivos. El contenido ruminal se filtró a través de dos capas de gasa para obtener el fluido ruminal. De este fluido, una muestra de 2 mL se mezcló con 2 mL de una solución de formalina al 50% y se almacenó a temperatura ambiente en la oscuridad hasta el recuento de protozoos. Otra muestra de 5 mL fue congelada inmediatamente a -80°C para la extracción de ADN.

Los recuentos se hicieron de cada muestra por duplicado en una cámara Hausser Nageotte Bright, en 10 campos microscópicos y a 40 aumentos. Cuando el coeficiente de variación entre réplicas era mayor de 10% se contó una tercera muestra. Los recuentos fueron realizados según los procedimientos descritos por Dehority (1993), y los datos se expresan en número de protozoos por mL.

Las muestras de líquido ruminal para la cuantificación de protozoos mediante qPCR se descongelaron a 4°C , se tomó 1 mL y se centrifugó ($13000 \times g$, 15 minutos). Se descartó el sobrenadante y se extrajo el ADN del pellet utilizando el kit QIAamp DNA stool (QIAGEN, Valencia, CA, EEUU). Los pellets se mezclaron con el buffer de lisis y se trataron durante 3 minutos en un Mini-Beadbeater (Biospec Products, Bartlesville, OK, EEUU) para provocar la lisis de los microorganismos ruminales. La extracción de ADN se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito por Yu y Morrison (2004), pero incluyó un paso adicional en el que las muestras se trataron con bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) para eliminar inhibidores de la PCR. El ADN de todas las muestras se diluyó 1:10 antes de realizar los análisis de qPCR en un ABI PRISM 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido). Se utilizaron cebadores previamente validados para el ADN codificante del gen del ribosoma 16S bacteriano (Denman y McSweeney, 2006) y el gen del ribosoma 18S de los protozoos (Sylvester et al., 2004). Como estándares para la cuantificación de las bacterias se utilizaron pellets de bacterias asociadas a la fase líquida que se aislaron del rumen de las ovejas siguiendo los procedimientos descritos por Ramos et al. (2009). Las condiciones de PCR fueron: 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos de 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto, seguidos de una curva de desnaturalización. Cada mezcla de PCR (20 μL) contenía: 10 μL de Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, Reino Unido), 0,9 μL de cada primer, 2 μL de muestra de

ADN y agua destilada hasta un volumen final de 20 μ L. Los valores obtenidos se analizaron con el software StepOne versión 2.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EEUU) y los datos de protozoos se expresan en relación a la cuantificación absoluta de bacterias según los cálculos descritos por Livak y Schmittgen (2001).

Los resultados obtenidos por cada método se sometieron a un análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo utilizando el procedimiento MIXED del SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El tipo de forraje, tiempo de muestreo y el período se consideraron efectos fijos, mientras que la oveja se consideró efecto aleatorio. La significación estadística se estableció en $P < 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se observan los resultados obtenidos con las dos dietas experimentales. Para las dos dietas, en el recuento de protozoos con cámara (Figura 1A) se observó una disminución del número de los mismos a las 4 ($P < 0,001$ y $0,012$ para las dietas AL y GR, respectivamente) y 8 horas ($P < 0,001$ y $0,034$) tras la administración del alimento. La concentración de protozoos fue mayor ($P = 0,015$) con la dieta AL que con la dieta GR. En cambio, los resultados obtenidos mediante la cuantificación relativa a la cantidad de bacterias totales mediante qPCR fueron diferentes, ya que la cantidad de protozoos en el líquido ruminal no varió ($P = 0,355$) con el tiempo de muestreo y fue mayor ($P = 0,010$) cuando las ovejas recibían la dieta GR que cuando ingerían la dieta AL (Figura 1B). Cuando se utilizó el método de cálculo $2^{-\Delta\Delta Ct}$, en el que la cantidad de protozoos en cada tiempo de muestreo se expresó en relación a la observada a la hora 0, no se observó efecto del tiempo de muestreo con la dieta AL ($P > 0,05$), pero con la dieta GR la cantidad relativa de protozoos a las 4 horas fue mayor ($P < 0,05$) que la cantidad observada antes de la administración de alimento y no existieron diferencias ($P > 0,05$) entre las 0 y 8 horas (Figura 1C). Los resultados contradictorios obtenidos con los dos métodos podrían ser debidos al hecho de que con el método qPCR la variación en el número de protozoos se expresa en términos relativos, en función de la cuantificación absoluta de las bacterias totales. Como se observa en la Figura 1D, con las dos dietas la cantidad de bacterias totales en el fluido ruminal a las 4 horas post-alimentación fue menor ($P < 0,05$) que la observada a las 0 horas. Por ello, aunque se hubiera producido también una disminución del número de protozoos a las 4 horas, si esta hubiese sido de menor magnitud que la de las bacterias, el resultado final sería la ausencia de cambios o incluso un aumento relativo de la cantidad de protozoos.

La disminución postprandial de la concentración de protozoos observada con los recuentos coincide con los resultados de otros autores utilizando el mismo método (Dehority y Orpin, 1997; Santra et al., 1998), y se ha atribuido a la migración de protozoos hacia las partículas de alimento y la dilución provocada por la secreción de saliva (Dehority y Orpin, 1997). Por otra parte, Valiki et al. (2009) utilizaron qPCR para realizar una cuantificación relativa de los protozoos ruminales en el líquido ruminal de ovejas y observaron que la cantidad de protozoos, expresada en relación a la cantidad de bacterias, aumentaba significativamente a las 4 horas tras la ingestión de alimento. Los resultados del presente estudio indican que la utilización de la cuantificación relativa de protozoos mediante qPCR puede producir resultados diferentes de los obtenidos mediante la técnica clásica del recuento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dehority, B.A., and C.G. Orpin. 1997. Pages 196-245 in *The Rumen Microbial Ecosystems*. Hobson, P. N., and C. S. Stewart, eds. 2nd ed. Blackie Academic & Professional, London. • Dehority, B.A. 1993. *Laboratory manual for classification and morphology of rumen ciliate protozoa*. Boca Raton, CRC Press. • Denman, S.E., and C.S. McSweeney. 2006. *FEMS Microbiol. Ecol.* 58(3): 572-582. • Livak, K.J., and T.D. Schmittgen. 2001. *Methods.* 25(4): 402-408. • Ramos, S., M.L. Tejido, M.J. Ranilla, M.E. Martínez, C. Saro, and M.D. Carro. 2009. *J. Dairy Sci.* 92(11): 5659-5668. • Santra, A., S.A. Karim, A.S. Mishra, O.H. Chaturvedi, and R. Prasad. 1998. *Small Rum. Res.* 30:13-18. • Sylvester, J.T., S.K.R. Karnati, Z. Yu, M. Morrison, and J.L. Firkins. 2004. *J. Nutr.* 134(12): 3378-3384. • Yu, Z., and M. Morrison. 2004. *Biotechniques.* 36: 808-812. • Valiki, A., M.D. Mesgaran, A.H. Mousavi, R. Valizadeh, D.R. Yáñez Ruiz, and C.J. Newbold. 2009. *Proc. of the BSAS 2009 Ann. Meeting.* Page 173.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (Proyectos AGL-2004-04755-CO2-01 y AGL2008-04707-CO2-02). C. Saro disfruta de una beca FPU del MEC (AP 2006-03049).

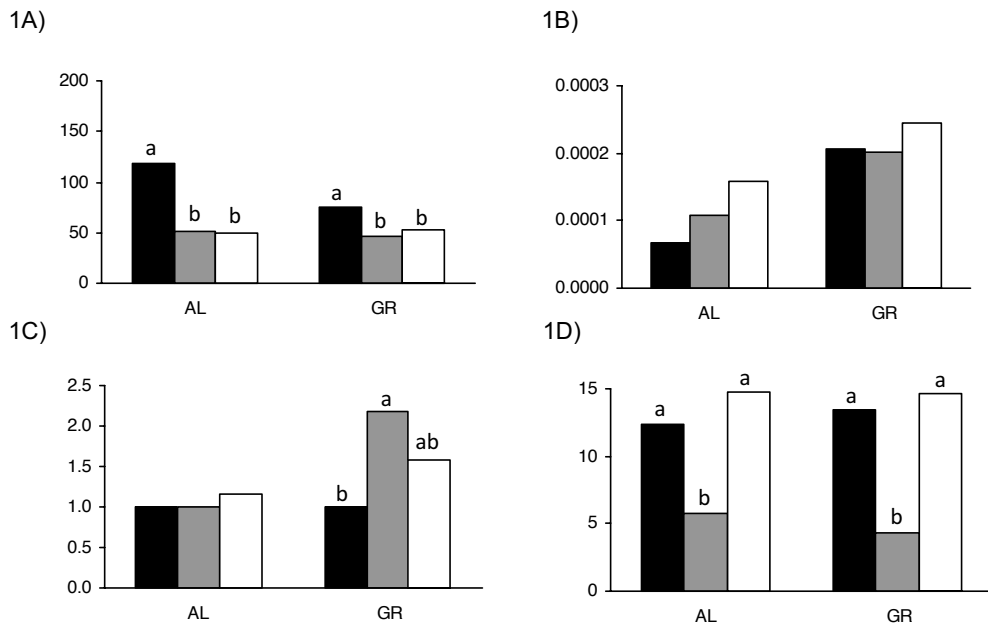


Figura 1. Evolución postprandial en el líquido ruminal de ovejas alimentadas con dos dietas con relación forraje:concentrado 70:30 y heno de alfalfa (AL) o heno de gramíneas (GR) como forraje de la cantidad de protozoos determinados por recuento directo (número de protozoos x 10⁴/mL; Figura 1A), mediante qPCR y cuantificación relativa a la cantidad de bacterias totales, expresada como $2^{-[(Cq \text{ protozoos} - Cq \text{ bacterias totales)} \text{ muestreo X}]}$, Figura 1B) o como $2^{-[(Cq \text{ protozoos} - Cq \text{ bacterias totales)} \text{ muestreo X}] - [(Cq \text{ protozoos} - Cq \text{ bacterias totales)} \text{ muestreo 0}]}$, siendo los tiempos de muestreo (X) las 0, 4 y 8 horas tras la administración de alimento (Figura 1C), y evolución de la cantidad de ADN bacteriano (μg ADN/mL) determinado mediante qPCR (Figura 1D). Para cada dieta, los valores con diferente letra en la columna difieren (P<0,05) entre sí.

□ 0 horas ▒ 4 horas post alimentación ■ 8 horas post alimentación.

QUANTIFICATION OF PROTOZOA POPULATIONS IN RUMEN FLUID AS DETERMINED BY MANUAL COUNTING AND REAL TIME PCR

ABSTRACT: Four cannulated merino sheep were used to evaluate the real time PCR (qPCR) method to quantify protozoa populations in rumen fluid. Two diets were formulated with 70:30 forage:concentrate ratio and alfalfa hay (AL) or grass hay (GR) as forage. Rumen fluid was sampled before feeding (0 h) and 4 and 8 h after feeding. Protozoa data from qPCR were expressed relative to absolute quantification of total bacteria population and were compared with results from manual counting of protozoa in a microscopic chamber. Results from both methods were different. In manual counting a decrease in protozoa number was observed at 4 and 8 hours post feeding (P<0.05), whereas qPCR results did not detect any change (P<0.05) between sampling times. Protozoa population was higher (P<0.015) for AL compared with GR diet with manual counting, whereas diet GR promoted a higher (P<0.010) protozoa population than AL diet with the qPCR method. Differences between methods may have been due to the fact that the results were expressed in relation to total bacteria quantification, and bacteria concentrations varied between sampling times.

Keywords: protozoa, qPCR, rumen, sheep

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA CAPACIDAD DE BLOQUEO DE LA ADHESIÓN DE *Escherichia coli* ENTEROTOXIGENICA (ECET) K88 AL MUCUS PORCINO POR PARTE DE DIFERENTES INGREDIENTES DIETÉTICOS

González-Ortiz, G., Hermes, R.G., Martín-Orúe, S.M. y Pérez, J.F

Grup de Recerca en Nutrició, Maneig i Benestar Animal. Departament de Ciència Animal i dels Aliments. Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Bellaterra, Barcelona
gemma.gonzalez@uab.cat

INTRODUCCIÓN

La colibacilosis postdestete del lechón, causada por cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* (ECET), es la principal causa de diarrea tras el destete (Fairbrother et al., 2005). En concreto, *E. coli* F4 (serotipo K88) es la principal cepa responsable a nivel mundial de pérdidas económicas en producción porcina (Zhang et al., 2007). El primer requisito en la patogenia de la colibacilosis, es el reconocimiento por parte de la bacteria de receptores intestinales que permitan su adhesión a la mucosa intestinal a través de las fimbrias. Una de las estrategias propuestas para prevenir la colonización digestiva por ECET K88 ha sido la de utilizar en la dieta análogos de los receptores que pudieran bloquear con éxito este tipo de unión. En este sentido diferentes ingredientes han sido propuestos por su capacidad para prevenir el desarrollo de colibacilosis. El salvado de trigo ha demostrado tener un efecto sobre la modulación de la microbiota intestinal, reduciendo las poblaciones de enterobacterias (Hermes et al., 2010). Compuestos con contenido en siálicos presentes en la leche de vaca, como el caseín glicomacropéptido (CGMP) y la sialilactosa han puesto en evidencia la capacidad de bloquear la adhesión de *E. coli* a la mucosa intestinal del cerdo (Molist et al., 2008). Algunos oligosacáridos derivados de microorganismos han demostrado disminuir el crecimiento y actividad de patógenos (Rhoades et al., 2006) con mejoras en el apetito y reducciones en el número de ECET adheridos a la mucosa intestinal en lechones infectados experimentalmente (Kiarie et al., 2010). El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de diferentes posibles ingredientes para unirse a *Escherichia coli* K88 así como para bloquear su unión a la mucosa intestinal mediante un modelo in vitro.

MATERIAL Y MÉTODOS

La cepa de *Escherichia coli* utilizada en este estudio fue aislada de un brote de colibacilosis en España (FV12048) del serotipo (O149:K91:H10 [K-88]/LT-1/STb) y proporcionada por el Laboratorio de Referencia de *E. coli* (LREC) de la Facultad de Veterinaria de Santiago de Compostela (La Coruña). La bacteria se cultivó a 37°C en Caldo Luria (Sigma, St Louis, USA) haciendo al menos 3 pases seriados cada 24 h. Se testaron cinco ingredientes: salvado de trigo (ST, de un molino local); casein glicomacropéptido (CGMP, Lacprodan®, Arla Foods, Dinamarca); manano-oligosacárido (MOS, Bio-Mos®, Alltech, USA); extracto de algarroba (EA; Sanicarob®, Hermanos Armengol, España) y extracto de fermentación de *Aspergillus oryzae* (AO, Fermacto®, Molimen S.L., España). Para valorar el bloqueo de la adhesión al mucus porcino se utilizó mucus ileal natural de lechones destetados sanos y tratados previamente con antibiótico, el cual se extrajo siguiendo el procedimiento de Fang et al., (2000). El ensayo de adhesión in vitro de los diferentes sustratos (Ensayo 1), y el test de bloqueo de adhesión sobre el mucus (Ensayo 2) se realizó en placas multipocillo de alta adhesión (Microcolon F plate 655 092; Greiner Bio-One BV, Alphen a/d Rijn, The Netherlands) de forma independiente siguiendo la metodología descrita por (Becker et al., 2007). Cada ingrediente fue testado por triplicado. Los ingredientes se resuspendieron en PBS estéril hasta alcanzar una concentración final de 1% (para el ST) o 0,4% para el resto (p/v). Las suspensiones se sonicaron tres veces durante 30 seg. (Unheated Ultrasonic Bath MU series, Clifton, Nickel Electro Ltd, Weston-super Mare, England) y se centrifugaron a 460 x g durante 5 min (Mikro 220R, Hettich Instruments, Germany). En el ensayo 1, el tapizado de las placas se realizó añadiendo 350 µL del sobrenadante de cada sustrato en el fondo de cada pocillo. Para el ensayo 2, se pipetearon 350 µL de mucus en cada pocillo. Posteriormente, las placas se incubaron durante 16h a 4°C. El tapizado de los pocillos con PBS estéril se incluyó como control negativo en el ensayo 1. Tras la incubación, las placas se lavaron con 350 µL de PBS estéril para eliminar tanto el sustrato como el mucus no adherido. El bloqueo de los lugares inespecíficos de adhesión se realizó incorporando 350 µL

de BSA al 1% y 0,5% de azida sódica en PBS (p/v) y dejando incubar durante 1 h a 4°C. Las placas se lavaron dos veces con PBS estéril. Paralelamente, las bacterias una vez crecidas en Caldo Luria se lavaron y se resuspendieron en PBS a una concentración de $1,20 \times 10^8$ CFU/ml. En el ensayo 1, a cada pocillo se le añadió un volumen total de 300 μ L de suspensión bacteriana. Para el ensayo 2, se realizó una incubación previa de la bacteria y el ingrediente durante 30 min a 37°C. Una vez transferidos 300 μ L de la mezcla en cada pocillo, se dejaron las placas a temperatura ambiente durante 30 min para permitir la adhesión de las bacterias al sustrato o al mucus. Posteriormente, los pocillos se lavaron tres veces con PBS estéril para eliminar las bacterias no adheridas. Finalmente, en cada pocillo se añadieron 300 μ L de Caldo Luria, y se incubaron a 37 °C permitiendo el crecimiento de las bacterias adheridas en un lector de placas (SPECTRAMax 384 Plus, Molecular Devices Corporation, Sunnyvale, California, USA). El crecimiento bacteriano se monitorizó mediante densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 650 nm cada 10 minutos. Los datos de DO se procesaron usando el procedimiento PROC NLIN, para modelos de regresión no lineal, del programa SAS (SAS®, 2002) y los parámetros obtenidos se usaron para calcular el $t_{DO=0.05}$ (tiempo (h) en el que la bacteria alcanza una DO de 0.05 a 650 nm). Finalmente, se realizó un test ANOVA de los valores de $t_{DO=0.05}$ usando el procedimiento GLM de SAS (SAS® 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la interpretación de los resultados es interesante considerar que en el primer ensayo, valores de $t_{DO=0.05}$ inferiores al observado en el control, indican la capacidad del sustrato que tapizaba el fondo del pocillo para adherir E. coli K88. En el segundo ensayo, por el contrario, valores más altos que el control indica que la incubación del sustrato con la bacteria fue capaz de bloquear en cierta medida su adhesión al mucus.

A partir de los resultados obtenidos con el tapizado de los pocillos con diferentes ingredientes (ensayo 1), se demostró que tanto ST, como CGMP y MOS tuvieron capacidad de unirse a E. coli K88 en comparación con el control negativo de PBS (Tabla 1). El tiempo medio en el que alcanzaron una DO de 0,05 fue 0,96, 1,06 y 1,81 h, respectivamente frente a las 2,94 h observadas en el control negativo. No se observaron cambios en los valores de $t_{DO=0.05}$ con EA y de AO.

Por el contrario, y en contraste con los anteriores resultados, la incubación de la bacteria con ST, CGMP, MOS o EA (ensayo 2), no modificó la adhesión de la E. coli K88 al mucus, ya que los valores de $t_{DO=0.05}$ fueron similares al control negativo. La incubación de E. coli K88 con el extracto de AO, resultó en una $t_{DO=0.05}$ significativamente superior a la del resto de ingredientes (2,91 h; $P < 0.0001$).

A partir de los resultados obtenidos podemos concluir que los extractos solubles del salvado de trigo, del casein glicomacropéptido y de los manano-oligosacáridos contienen compuestos con capacidad de adherirse a Escherichia coli K88. Sin embargo el bloqueo de estas adhesinas/lectinas no fue capaz de disminuir la adhesión del E. coli al mucus porcino. En el caso del AO, los mecanismos de adhesión involucrados parecen ser distintos. El extracto de AO es capaz de disminuir la adhesión de E. coli K88 al mucus, probablemente mediante el bloqueo de los receptores intestinales y no de las lectinas bacterianas ya que no fuimos capaces de detectar, para este ingrediente, ninguna capacidad de adhesión de la bacteria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becker, P. M., Galletti, S., Roubos-van den Hil, P. J., van Wixselaar, P. G. 2007. J Appl Microbiol. 103:2686-2696.
- Fairbrother, J. M., Nadeau, E., Gyles, C. L. 2005. Anim Health Res Rev. 6 (1): 17-39.
- Fang, L., Gan, Z., Marquardt, R. R. 2000. Infect Immun. 68 (2): 564-9.
- Kiarie, E., Bhandari, S., Scott, M., Krause, DO., Nyachoti, C. M. 2010. J. Anim. Sci. 88.
- Molist, F., Virkola, R., Gómez de Segura, A., Pérez, J. F. 2008. Gut Microbiome Conference. Clermont-Ferrand.
- Hermes, R. G., Molist, F., Ywazaki, M., Gómez de Segura., Gasa, J., Torrallardona, D., Pérez, J. F. 2010. Livest. Sci. 133: 225-228.
- Rhoades, J., Gibson, G., Formentin, K., Beer, M., Rastall, R. 2006. Carbohydr. Polym. 64:57-59.
- Zhang, W., Zhao, M., Ruesch, L., Omot, A., Francis, D. 2007. Vet. Microbiol. 123:145-152.

Agradecimientos: El presente trabajo forma parte del proyecto AGL2007-60851 financiado con los recursos del Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España

Tabla 1. Tiempo de detección ($t_{DO=0.05}$, h) en placas multipocillo del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* K88 como medida de adhesión a diferentes ingredientes (ensayo 1, pocillos tapizados con los ingredientes) o del bloqueo de la adhesión al mucus porcino promovida por los mismos ingredientes (ensayo 2, pocillos tapizados con mucus).

Tratamiento	Tapizado con ingrediente ($t_{DO=0.05}$, h)	Previo tapizado con mucus ($t_{DO=0.05}$, h)
Control negativo – PBS ¹	2,94 ^b	-
Control negativo – MUC ²	-	1,74 ^{bc}
ST (1%) ³	1,09 ^{cd}	1,36 ^c
CG (0,4%) ⁴	0,96 ^d	1,60 ^{bc}
MOS (0,4%) ⁵	1,81 ^c	1,81 ^b
EA (0,4%) ⁶	2,93 ^b	1,67 ^{bc}
AO (0,4%) ⁷	3,73 ^a	2,91 ^a
EEM	0,295	0,193
P valor	<0,0001	<0,0001

¹PBS: Buffer salino fosfato; ²MUC: mucus ileal porcino natural; ³ST: salvado de trigo; ⁴CG: casein glicomacropéptido; ⁵MOS: manano-oligosacáridos; ⁶EA: extracto de algarroba; ⁷AO: extracto de la fermentación de *Aspergillus oryzae*

IN VITRO EVALUATION OF THE ABILITY OF DIFFERENT DIETARY INGREDIENTS TO INHIBIT THE ADHESIÓN OF ENTEROTOXIGENIC *Escherichia coli* (ETEC) K88 TO THE PORCINE MUCUS

ABSTRACT: Two in vitro adhesion tests were done to evaluate the ability of casein glicomacropéptido (CGMP), wheat bran (ST), mannan-oligosaccharides (MOS), locust bean (GF) and *Aspergillus oryzae* extract (AO) to bind ETEC (Trial 1) and block its attachment to porcine ileal mucus (Trial 2). The supernatant of the feedstuffs after sonication (Trial 1) or porcine mucus (Trial 2) were introduced into the plate and incubated at 4°C overnight. After the washing procedure, *E. coli* strains were inoculated, either alone (Trial 1) or combined with the ingredients (Trial 2) for 30-min. The plates were washed with PBS to remove non-attached bacteria, and Luria Broth media was added to promote the growth of the attached bacteria (37°C, 10 h). The optical density (OD, 650 nm) was recorded every 10 minutes in a spectrophotometer. The delay time (h) to reach an OD of 0.05 was registered. CG, ST and MOS were able to bind ETEC. However, they were not able to block its attachment to the intestinal mucus. In contrast, AO blocked the attachment of ETEC to the intestinal mucus. Further studies should be done in order to understand the in vivo implications of these results on the pathogens binding to the intestinal mucosa.

Keywords: *Escherichia coli* K88, prebiotic, in vitro adhesion assay

EVOLUCIÓN DE LA POBLACIÓN BACTERIANA TOTAL Y METANOGENICA EN EL PROCESO DE CO-DIGESTION ANAEROBIA DE PURINES DE CERDOS

Seradj, A. R.¹, Morazan, H.J.¹, Álvarez-Rodríguez, J.¹, Babot, D.¹, Hermida, B.¹ Yañez, D.R.², Abecia, L.² y Balcells, J.¹

¹Departament Producció Animal, ETSEA. Av. Alcalde Rovira Roure 191; 25198. Lleida. España.

²Estación Experimental del Zaidín (CSIC), Profesor Albareda, 1. 18008 Granada, España.
balcells@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

En función del tipo de poblaciones microbianas que participan en la fermentación anaerobia del purín podemos distinguir tres fases, en la primera las partículas y moléculas complejas son hidrolizadas por enzimas microbianas extracelulares. En este proceso primario de fermentación se producirán una serie de compuestos solubles que, en una segunda fase, serán metabolizados intracelularmente. Oligosacáridos, azúcares, alcoholes, aminoácidos y ácidos grasos, son fermentados por la flora acidogénica para producir, principalmente, ácidos grasos de cadena corta, alcoholes, CO₂ e hidrógeno. Finalmente a partir de ácido acético e H₂ se producirá metano (Campos, 2001).

El objetivo del presente ensayo fue analizar la evolución de la población bacteriana total y metanogénica a lo largo del proceso de co-digestión anaerobia de purines de cerdos con sustratos de diferente naturaleza co-inoculados con heces frescas de vaca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras de purín (inóculo; 10 % materia seca (MS), elaborado con heces frescas y orina, fue diluido en una solución tampón (Theodorou et al., 1994) (20:80, 40:60 y 60:40, en 60 ml) para obtener tres tipos homogéneos de purín con diferentes concentraciones de MS (2, 4 y 6%, respectivamente). Como co-sustratos se utilizaron 600 mg/botella de tres subproductos agrícolas compuestos por hidratos de carbono de diferente naturaleza: paja de cereal, pulpa de remolacha y de manzana. Finalmente se utilizó como co-inóculo heces frescas liofilizadas y molidas de vacuno lechero a diferentes niveles de inclusión (5 y 10 %, respectivamente). Sustratos e inóculos se aplicaron en un diseño experimental 3x3x2 (3 niveles de MS en el purín x 3 co-sustratos x 2 niveles de co-inóculo). Las heces y orina fueron obtenidas a partir de 4 cerdas adultas, en el primer caso mediante colección directa del ano, en el segundo por masaje vulvar. Tanto en el purín, como en los co-sustratos e inóculos se analizó su contenido en materia orgánica (MO) (550°C/ 3 horas).

La incubación del purín se realizó según el procedimiento descrito por Theodorou et al. (1994). Para ello, en condiciones de anaerobiosis se preparó la solución tampón y se mezcló inicialmente con el purín, manteniendo el medio en agitación constante (flujo burbujeante de CO₂ y un indicador del nivel de reducción) y a una temperatura constante (39 ± 1 °C). Una vez preparado el medio de incubación se trasvasó, manteniendo las condiciones, a las 4 botellas (replicas) de incubación (60 ml) que habían sido llenadas previamente con las cantidades correspondientes de co-sustrato y co-inóculo. Se procedió también al llenado de los blancos. Se definieron como blancos la botellas que contenían una de las siguientes combinaciones, i) tampón+purín y ii) tampón+purín+co-inóculo. Realizada esta operación, se procedió a sellar las botellas mediante séptum de butilo y cápsulas de aluminio en presencia de flujo de constante de CO₂, se liberó la presión, y tras su agitado se procedió a iniciar la incubación en estufa a 39 ± 1 °C.

Durante la totalidad del ciclo de fermentación (56 días) se determinó la producción de gas a partir de la presión (TP704DELTA OHM, Caselle di Selvazzano, Italia) en el espacio de cabeza de la botella, las determinaciones se realizaron diariamente, los primeros 7 días, 2 veces por semana los siguientes 21, para finalizar con mediciones semanales. Adicionalmente al inicio (día 0) y los días 25 y 56 se procedió a la apertura y muestreo de cada una de las botellas para caracterizar la fermentación del purín (por ejemplo, pH, NH₃) y obtener muestras representativas de poblaciones microbianas. Para ello, las muestras del medio (12 ml) se congelaron inmediatamente en N líquido tras su apertura.

En cada muestreo, se determinó la presión, se liberó el gas y una vez restaurada la presión en el espacio de cabeza se procedió a obtener las muestras de metano (CH₄). Dichas

muestras se obtuvieron manualmente mediante jeringuillas de 0,5 ml de precisión. De esta forma se determinó la proporción de CH₄ en el gas producido. El análisis de CH₄ se realizó una columna de conductividad térmica (Agilent Technologies 7890A, Net Work GC System, Perkin Elmer, Boston, EEUU). Las muestras congeladas se liofilizaron y molieron de forma previa a la extracción de ADN. El proceso de extracción se realizó mediante el kit QIAamp® DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Crawley, West Sussex, Reino Unido). Aunque el procedimiento de extracción a partir del QIAamp® proporciona una eficiencia homogénea de lisis celular y calidad ADN, la concentración y la pureza del extracto de ADN se evaluó con nano-gota a partir de las relaciones A260/A280 de los extractos. Para la detección de bacterias totales se utilizaron cebadores específicos del gen 16S rARN (Maeda et al., 2003). Para las arqueas metanogénicas (AM) se utilizaron los cebadores del gen mcrA descritos por Denman et al. (2007). Para cuantificar las copias génicas se emplearon patrones consistentes en extractos del plásmido pCR[®]4-TOPO (Invitrogen™, Carlsbad, CA, USA), recombinado con el fragmento diana anteriormente mencionado para cada grupo.

Para el tratamiento de los resultados y su análisis estadístico se procedió a transformar el número de copias de bacterias totales y AM a su logaritmo [log10]. Se determinó también la cuantificación relativa de AM, como la relación entre el número de copias del gen mcrA con respecto al número de copias del gen 16S rARN ($\Delta Ct = Ct\ AM - Ct\ bacterias\ totales$).

Los datos se analizaron mediante el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EEUU), utilizando un modelo mixto de medidas repetidas que consideró el tipo de purín, la dosis de co-inóculo, el tipo de co-sustrato y la semana de incubación como efectos fijos, y la botella como efecto aleatorio. Así mismo, se evaluó la asociación entre el número de copias del gen mcrA y la producción de metano en cada semana de incubación con el test de correlación no paramétrico de Spearman.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución de la población de bacterias totales y de AM difirió en función de la concentración de materia seca (MS) en el purín original ($P < 0,001$). Los purines más diluidos (2% MS) mostraron una menor población de bacterias totales y AM [en la 1ª y 4ª semana], en relación a los purines más concentrados (4 y 6%, respectivamente) ($P < 0,05$). Al final del período de incubación (8ª semana), la población de bacterias totales también difirió entre los purines con mayores concentraciones de MS, así, el número de copias del gen 16S rARN fue superior en el purín con 6% MS que las que se cuantificaron en el purín con 4% MS (logaritmo $6,59 \pm 0,64$ vs. $4,00 \pm 0,59$). Las AM mostraron un comportamiento similar, aunque al final del período de incubación, el número de copias del gen mcrA fue superior en el purín de 6% MS que en el de 4% y 2% MS, respectivamente (logaritmo $3,31 \pm 0,36$ vs. $1,98 \pm 0,34$ y $1,57 \pm 0,34$, respectivamente; Figura 1a).

La cuantificación relativa de arqueas metanogénicas, en relación a la población bacteriana total, fue también modificada por el tipo de purín ($P < 0,01$). A las 4 y 8 semanas de incubación, los purines con un 2% MS mostraban mayores proporciones de AM que las registradas en los purines más concentrados (4% y 6% MS, $P < 0,05$). Ello indicaría que la reducción en la proporción de AM estuvo relacionada inversamente con la dilución del purín.

La adición de un segundo inóculo, en nuestro caso heces frescas de bovino, no indujo ningún tipo de respuesta en los purines más diluidos (2% MS). Sin embargo, en los purines más concentrados (4 y 6 % MS, respectivamente), la adición de diferentes cantidades del co-inóculo dio lugar a una respuesta diferencial. En el primer caso los títulos de bacterias totales y AM disminuyeron mientras que en el segundo se apreció el efecto contrario incrementando las poblaciones totales y la de AM con la dosis de co-inóculo (interacción significativa entre la concentración de MS del purín y la dosis de co-inóculo en el medio, $P < 0,05$).

El uso de co-sustratos (paja de cereal, pulpa de manzana o pulpa de remolacha) en ningún caso alteró la población de bacterias totales, arqueas metanogénicas, ni sus proporciones relativas ($P > 0,05$).

La metodología empleada permitió relacionar la producción de metano (ml/g MS) y los títulos de arqueas metanogénicas. Esta relación fue modificada por la concentración de MS en el purín. Así, en el purín más diluido dicha relación no mostró ninguna tendencia ($P > 0,10$), sin embargo, en los purines más concentrados la relación entre producción de metano y títulos de AM mostró una correlación negativa ($P < 0,01$; Figura 1b).

Nuestros resultados muestran que la dilución del purín redujo los títulos de bacterias (n° copias/g MS) totales y arqueas metanogénicas durante el proceso de co-digestión. La utilización de un co-inóculo, como las excretas frescas de bovino, sólo mejoró los títulos de bacterias en los purines más concentrados mientras que la adición de co-sustratos (paja o pulpa de remolacha o manzana) en ningún caso alteró la estructura microbiana del medio. La correlación negativa entre la abundancia de AM y la producción de metano sugiere que únicamente algunas especies metanogénicas serían las responsables de la eficiencia energética del proceso de co-digestión, por ello sería necesario profundizar en los estudios que permitiesen aislar y estudiar la funcionalidad de este grupo de arqueas y con ello poder mejorar de la eficiencia energética del proceso de co-digestión del purín.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campos, E. 2001. Tesis doctoral. Universidad de Lleida. 394 pp. • Denman, S.E., Tomkins, N.W., McSweeney, C.S. 2007. FEMS Microbiol Ecol 62: 313-322. • Maeda, H., Fujimoto, C., Haruki, Y., Maeda, T., Kokeyuchi, S., Petelin, M., Arai, H., Tanimoto, I., Nishimura, F., Takashiba, S. 2003. FEMS Immunol Med Microbiol 39: 81-86. • Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J., 1994. Anim Feed Sci Techn 48: 185-197.

Agradecimientos: Estudio financiado por el MCINN (proyecto AGL2010-20820). A.R. Seradj y H. Morazán disfrutaron de becas AGAUR FI-DGR 2011 y MAEC-AECID 2010-2011, respectivamente.

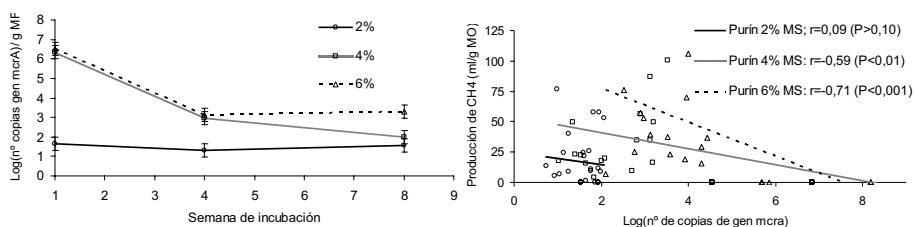


Figura 1. Cuantificación absoluta del número de copias del gen *mcrA* por gramo de materia fresca (MF) en los distintos tipos de purín a lo largo de las semanas de incubación (a) y correlación entre la producción de metano y el número de copias del gen *mcrA* para cada tipo de purín (b)

EVOLUTION OF TOTAL BACTERIA AND METANOGENIC ARQUEAS POPULATION ALONG WITH ANAEROBIC CO-DIGESTION OF PIG SLURRY

ABSTRACT: This experiment studied the effects of slurry concentration (% DM), co-substrate addition and cow faeces as external source of metanogenic Archaea (MA) on "in vitro" evolution of bacterial and MA titres along the anaerobic fermentation of pig slurry (56 day incubation period).. The artificial constructed slurry (10 % DM from fresh faeces and urine) was diluted to 2, 4 and 6% DM using the mineral Theodorou's buffer. Cereal straw, sugar beet or apple pulp were used as substrates. Methane production was determined by gas chromatography and bacterial titres were determined by quantitative real-time PCR (qPCR). The relative proportion of MA was modified by slurry concentration, being lower in those slurries with high DM content ($P<0.05$). Addition of cow faeces has no effect on the diluted (2 % DM) although it showed a differential response in the concentrated slurries. MA titres were reduced in 4% DM slurry with cow faeces addition whereas the opposite occurred in 6% DM slurry. No substrate effect was detected on MA titres. A negative correlation was detected between methane production (ml/g OM) and MA titres, suggesting that only specific Archaea are able survive and to produce methane on anaerobic slurry fermentation conditions.

Keywords: Pig slurry, co-digestion, methanogenic archaea, qPCR.

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DE CALOSTRO DE CERDA E INTESTINO DE LECHONES RECIÉN NACIDOS. EVALUACIÓN PRELIMINAR DE SUS POSIBILIDADES DE USO COMO PROBIÓTICOS

González Vega¹, L. M., Barrios V., García Díez M., Naharro, G. Carvajal, A., Rubio. P.
¹Facultad de Veterinaria Universidad de León. Campus de Vegazana s/n 24071- León España. E-mail: luismijail@hotmail.es

INTRODUCCIÓN

Una de las etapas de la vida del cerdo que más problemas sanitarios plantea es el destete. El cambio de alimentación junto al estrés que supone la separación de la madre, la mezcla y el cambio de alojamiento hacen que sea frecuente la aparición de diarreas ocasionadas por enterobacterias, entre las que destaca *Escherichia coli*. Tradicionalmente para el control de las diarreas en esta fase se han venido utilizando antibióticos en el pienso. Esta utilización habitual de antibióticos ha generado la aparición de cepas resistentes y tiene además implicaciones negativas de distinto tipo en la salud humana y animal. La Unión Europea viene promoviendo medidas encaminadas a limitar todo lo posible la utilización de antibióticos, prohibiendo su utilización como promotores del crecimiento. Por ambos factores, es necesario buscar alternativas al uso de antibióticos. Entre ellas está el empleo de pro y prebióticos. Los lechones recién nacidos tienen un sistema inmunitario aún muy inmaduro y no desarrollan una respuesta inmunitaria local suficiente para proteger su intestino contra los agentes patógenos. Por otra parte, el intestino es la vía de infección de los agentes causantes de diarreas. En las primeras semanas de vida y mientras su sistema inmunitario va madurando, el lechón depende de la protección pasiva que le proporcionan los anticuerpos presentes en el calostro y en la leche de la madre. En estudios hechos en el hombre, se ha comprobado que la leche materna trasfiere células inmunitarias de la madre al recién nacido (Lawrence y Pane, 2007) y que es un factor fundamental en el desarrollo y en la composición de la microbiota intestinal del neonato y una fuente de bacterias del ácido láctico capaces de colonizar su intestino (Martin et al. 2003; Martin et al. 2004). Recientemente se han aislado también lactobacilos de leche de cerda y se han evaluado algunas de sus características como potenciales probióticos (Martín et al, 2009). No obstante, los estudios microbiológicos de la leche de cerda aun son escasos. Por ello el objetivo de este trabajo fue aislar e identificar tanto en cerdo blanco como en cerdo ibérico cepas del ácido láctico de calostro de cerdas y de intestino de lechones y valorar algunas de sus propiedades para su potencial uso como probióticos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de calostro de 40 cerdas blancas e ibéricas con diferente número de partos. Del mismo modo, se tomaron muestras de contenido y de mucosa de diferentes segmentos del tracto gastrointestinal y del cordón umbilical de 10 lechones recién nacidos que se recogieron en el momento del parto antes de la ingestión de calostro.

Estas muestras se sembraron por duplicado en placas de agar MRS y se incubaron tanto en condiciones de aerobiosis como en anaerobiosis a 37°C durante 48 a 72 horas. Las colonias con diferentes morfologías (forma, tamaño y color) fueron resembradas hasta obtener aislados. Los cultivos puros obtenidos se caracterizaron en primer lugar morfológicamente por medio de la tinción de Gram.

Para la identificación de las cepas se procedió a la amplificación por PCR del fragmento correspondiente a la región intergénica 16S/23S del ADN ribosomal. Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados según el método de Sanger en el Laboratorio de Técnicas Instrumentales de la Universidad de León y las secuencias obtenidas fueron contrastadas con las bases de datos existentes (NCBI, BLAST) para su caracterización. Se analizaron otras propiedades de los aislamientos por medio de pruebas bioquímicas con el fin de diferenciar las distintas cepas, empleando el ensayo API 50 CH (Biomérieux), que permitió agruparlas en función de sus perfiles metabólicos.

Por otra parte, se estudió la capacidad antimicrobiana de los aislados frente a *Salmonella Typhimurium* (CECT4594) y *Escherichia coli* (CECT434) mediante el método de "agar spot test" descrito por Zamora (2003).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron 98 aislados del calostro de cerdas blancas e ibéricas y del tracto gastrointestinal de los lechones. El análisis de la región intergénica 16S/23S de estos aislados reveló la presencia de cepas de los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Lactobacillus*.

Una vez identificados los aislados, se procedió a la caracterización de las especies con potencial probiótico, analizándose en mayor profundidad las características bioquímicas de diez aislados de dos especies diferentes de bacterias del ácido láctico: *Lactobacillus reuteri* y *Enterococcus faecium* correspondientes a aislados de calostro y, en caso de *E. faecium* aisladas también de meconio de lechones.

Se observaron diferencias en las pruebas bioquímicas entre cepas de la misma especie para el metabolismo de algunos carbohidratos como D-Fructosa, L-Arabinosa, N-acetil glucosamina y gluconato para cepas de *Lactobacillus reuteri*, y D-Tagatosa para las de *Enterococcus faecium*.

El estudio de la actividad antimicrobiana frente a las enterobacterias indicadoras demostró que todas la cepas estudiadas provocaban halos de inhibición, siendo más notables frente a *E. coli*. La actividad inhibitoria resultó ser mayor en ambos casos con las cepas de *Enterococcus faecium*.

Martín et al. (2009) determinaron y evaluaron el potencial probiótico de aislados de *Lactobacillus* procedentes de leche canina, identificando cuatro especies potencialmente probióticas. En humanos se ha demostrado que la leche constituye una fuente de bacterias probióticas para el tracto gastrointestinal del recién nacido (Heikkilä y Saris, 2003; Martín et al., 2003, Olivares et al., 2006, Martín et al., 2007 y Martín et al., 2010). En la especie porcina algunos trabajos realizados por Martín et al. (2009a) también han demostrado la presencia de bacterias probióticas del ácido láctico en este líquido biológico. Sus estudios les permitieron llegar a la conclusión que la leche de esta especie protege a los lechones contra enfermedades infecciosas a través de varios mecanismos y para ello evaluaron su potencial probiótico a través de diferentes ensayos, incluida la supervivencia en condiciones que simulan las existentes en el tracto gastrointestinal, la producción de compuestos antimicrobianos, la adhesión a la mucosa intestinal y el patrón de sensibilidad antibiótica.

Los resultados del análisis preliminar de las cepas de bacterias ácido lácticas obtenidas reflejan la necesidad de un estudio más profundo de sus propiedades y características para su posible uso como probióticos en lechones, lo cual podría resultar una alternativa viable al uso de antibióticos como promotores de crecimiento en esta especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Heikkilä, M.P., and Saris, P.E.J. 2003. *J. Appl. Microbiol* 95:471-478. • Hosea Blewett, H.J., Cicalo, M.C., Holland, C.D., Field, C.J. 2008. *Adv. Food. Nutr. Res.* 54: 45-80. • Langa, S. 2006. • Lawrence, R.M. and Pane, C.A. 2007. Human breast milk: Current concepts of immunology and infectious diseases. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc Health Care.* 37:7-36. • Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M.L., Xaus, J., Fernández, L., Rodríguez, J.M. 2003. *J. Pediatr.* 143 (6): 754-758. • Martín, R., Langa, S., Reviriego, C., Jiménez, E., Marín, M. L., Olivares, M., Boza, J., Jiménez, J., Fernández, L., Xaus, J., Rodríguez, J. M. 2004. *Trends in Food Sci. and Technol.* 15:121-127. • Martín, R., Heilig, H.G., Zoetendal, E.G., Rodríguez, J.M., 2007. *J Appl. Microbiol* 103: 2638-2644. • Martín, R., Olivares, M., Pérez, M., Xaus, J., Torre, C. Fernández, L. and Rodríguez, J.M. 2009. *Vet. J.*, 185 (2):193-198. • Martín, R., Delgado, S., Maldonado, A., Jiménez, E., Olivares, M., Fernández, L., Sobrino, O. J., Rodríguez, J. M. 2009a. *J. Dairy Res.* 76 (4): 418-425. • Olivares, M., Díaz-Roperro, M. P., Martín, R., Rodríguez, J. M., Xaus, J., 2006. *J. Appl. Microbiol* 101: 72-79. • Zamora, M. L. 2003. Tesis doctoral. Universidad de Girona.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID) del Ministerio de Asuntos Exteriores y Cooperación de España (MAEC)

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF LACTIC ACID BACTERIA FROM COLOSTRUM OF SOWS AND INTESTINE OF NEW BORN PIGLETS. PRELIMINARY EVALUATION OF THEIR POTENTIAL AS PROBIOTICS

ABSTRACT: For this study we used 40 white and iberian sows and 10 new born piglets in order to isolate and identify acid lactic strains from colostrum in sows and from meconium and gastrointestinal mucosa and content in new born piglets before the first intake of colostrum. The obtained pure cultures were characterized morphologically and identified by means of PCR and sequencing. Other biochemical properties were studied using the 50 API CH tests that allowed grouping them based on their metabolic profiles. The obtained isolates with possible probiotic potential corresponded to *Lactobacillus reuteri* and *Enterococcus faecium*.

Keywords: Probiotic, colostrum, sows, farrow.

OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE CERDOS COMO CANDIDATOS A PROBIÓTICOS. RESULTADOS PRELIMINARES.

Barrios V., Carvajal A., Samaniego L.M., Naharro G., Mijail L., Rubio P.
ULE. Facultad de Veterinaria. Departamento de Sanidad Animal. Grupo de Enfermedades Digestivas del Cerdo. Campus de Vegazana s/n. C/P 24071. (León). España. E-mail: vladimirbarrios2009@yahoo.com.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los probióticos han adquirido mayor relevancia en las condiciones de producción porcina, por la sustitución creciente que han sufrido los antibióticos y los promotores hormonales del crecimiento en nuestros sistemas productivos. Incontables son los argumentos que perfilan estas decisiones a los líderes en el mercado de los alimentos, ya sea por la resistencia a los productos antimicrobianos que sufren indirectamente los seres humanos, así como por los residuales y potenciales agentes carcinogénicos que perjudican no solo la salud animal, sino también a su principal consumidor y beneficiario “el hombre”. Es de vital importancia conocer que el sistema digestivo, en su fisiología, integra a más del 70% del funcionamiento del sistema inmunitario a través de la cadena ganglionar y los mecanismos específicos de la inmunidad de mucosas, siendo a este nivel donde se produce mayor cantidad de Inmunoglobulinas A, estando a su vez relacionado con el equilibrio microbiano proveniente del intestino grueso (ciego y colon).

Actualmente España tiene el mayor nivel de prevalencia de Salmonella en la Eurozona y existen estudios que demuestran el incremento sustancial de las enfermedades digestivas del cerdo que afectan a la producción e indirectamente a la salud del hombre (EFSA, 2008). Dicha situación se agrava con la utilización indiscriminada de antibióticos en las explotaciones y los cambios de alimentación por razones obvias de rentabilidad y mercado que se imponen en la actualidad. Teniendo en cuenta lo antes planteado, el objetivo del presente trabajo es obtener, aislar e identificar bacterias ácido lácticas del tracto gastrointestinal y las heces de cerdos saludables para estudios posteriores como candidatos a probióticos así como presentar algunos resultados preliminares de este proceder.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron diversos muestreos de heces directas, contenido intestinal y raspado de toda la mucosa del tracto gastrointestinal en cerdos híbridos comerciales libres de antibióticos en condiciones de producción. Los animales muestreados incluyeron lechones en el momento del destete, en transición y cerdos de cebo. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, España.

Se realizó el aislamiento y la purificación de bacterias ácido lácticas (BAL) según la metodología descrita por Rondón (2009) empleando medio MRS. Las siembras se realizaron por el método directo en placas sin cubrir en condiciones de anaerobiosis, a 37,5°C durante 48h y por siembra profunda en doble capa en iguales condiciones. Seguidamente se les efectuó la tinción de Gram y la prueba bioquímica de catalasa. Todas las cepas depuradas fueron observadas y fotografiadas en microscopio óptico siendo sometidas a una rigurosa selección, basada en criterios morfológicos. Se organizaron en subgrupos de 50 para su optimización y procesamiento. A continuación se realizaron en el primer subgrupo de aislados las pruebas de disminución de pH del medio, resistencia a la barrera digestiva empleando medio de cultivo MRS enriquecido con HCl al 0.1 N con pH 1.5, 2 y 4 (Petros et al., 2006) y sales biliares concentradas a 0.5, 1 y 1.5 % respectivamente.

Finalmente, 15 de los aislados del primer subgrupo en estudio fueron escogidos en función de su capacidad de resistencia a la barrera digestiva e identificados mediante PCR siguiendo el

protocolo descrito por Tannock et al. (1999). Los primers o cebadores utilizados en la amplificación de la región espaciadora intergénica 16S-23S fueron Primer 16-1A, 5'-GAATCGCTAGTAATCG-3', correspondiente con los nucleótidos 1361 al 1380 del gen del ARNr 16S para la numeración de *Lactobacillus casei* y Primer 23-1B, 5'-GGGTTCCCCATTGGA-3', correspondiente con los nucleótidos 123 al 113 del gen del ARNr 23S para la numeración de *Lactobacillus casei*. Las secuencias obtenidas fueron cotejadas en el GenBank, mediante el software BLAST, disponible en el National Center for Biotechnology Information (NCBI).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de las siembras demostraron que los mejores crecimientos bacterianos en todos los casos se presentaban entre las diluciones 10^{-5} y 10^{-7} , lo cual permitió estandarizar las diluciones. Se aislaron en total 1.800 colonias y se seleccionaron un total de 298 aislados de bacilos Gram positivos (G+) y catalasa negativos (-). Además, la siembra directa en placas sin cubrir en condiciones de anaerobiosis aportó menor cantidad y diversidad de flora láctica que la siembra profunda en doble capa. Estos resultados indican que, aparentemente, se desarrolla mayor cantidad de flora láctica en el ciego que en el colon. Todas las cepas del primer subgrupo en estudio disminuyeron significativamente el pH del medio y seleccionamos aquellas que presentaron valores inferiores a 4,5. La resistencia al pH extremo fue variable y solo resistieron concentraciones ácidas con un crecimiento aceptable 15 cepas (30 %) (Gráfico 1), mientras que la resistencia a los ácidos biliares fue decisiva en el proceso de selección. Presentaron la mayor resistencia a la acción de las sales biliares el *Enterococcus dispar* (Gráfico 2) y el *Streptococcus gordonii*, ambos superiores a los aislados de *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus gallolyticus* subsp. *gallolyticus* y *Lactobacillus ruminis* (Gráfico 3). Los resultados obtenidos demuestran la presencia de una flora láctica diversa en el intestino y las heces fecales de cerdos saludables, en todas sus etapas de producción, que puede ser considerada de utilidad para estudios posteriores como candidatos a probióticos. Se identifican como géneros presentes: *Enterococcus* con un 6,7%, *Streptococcus* un 20% y el *Lactobacillus* con un 73,33%, siendo este último el predominante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EFSA 2008 Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007.
- Rondón, A.J., 2009. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal de la Habana. Complejo científico de la Universidad Agraria de La Habana. Cuba.
- Petros A. M., Georgia Z., Christos M., Kalantzopoulou G., Pot B., Tsakalidou E., 2010. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal* 16 (2006) 189–199
- Tannock, G. W. 1999. A fresh look at the intestinal microflora. Chapter 1. In: *Probiotics. A Critical Review*. Ed. by G. W. Tannock. Horizon Scientific Press. England.

Agradecimientos: Agencia Española de Cooperación Internacional para el desarrollo (AECID) y al Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación (MAEC) y Universidad de León.

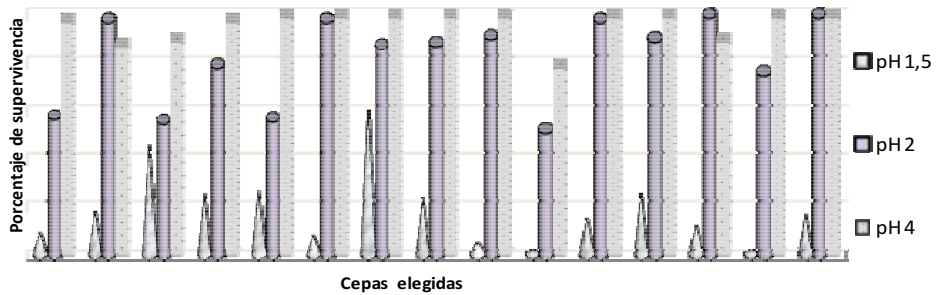


Gráfico 1. Porcentaje de supervivencia a los diferentes pH en 15 cepas seleccionadas.

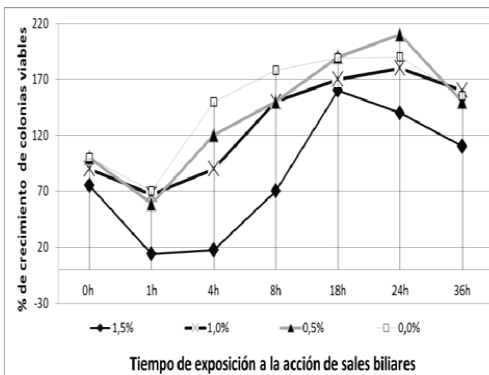


Gráfico 2. Resistencia a concentraciones de sales biliares en un aislado de *E. dispar*.

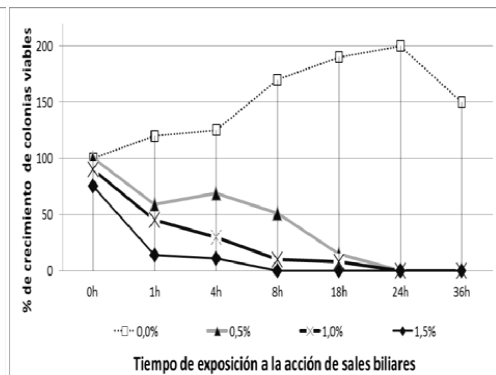


Gráfico 3. Resistencia a concentraciones de sales biliares en un aislado de *L. ruminis*.

COLLECTION AND IDENTIFICATION OF LACTIC BACTERIA OF THE LARGE INTESTINE IN PIGS AS PROBIOTIC CANDIDATES. PRELIMINARY RESULTS

ABSTRACT: Lactic acid strains were isolated from the intestinal mucosa and faeces of pigs at different stages of their breeding. Serial decimal dilutions of these samples were grown in MRS medium. A total of 1,800 colonies were obtained and checked with two preliminary tests, Gram stain and catalase test, to finally select 298 isolates of Gram positive and catalase negative bacteria. A subgroup of 50 isolates were tested to determine the ability to tolerate decreased pH and the resistance to gastric juices and bile salts. A total of 15 isolates were selected according to their probiotic characteristics and were identified by molecular methods as members of the *Enterococcus*, *Streptococcus* and *Lactobacillus* genera

Keywords: *Lactobacillus*, mucous membranes, Pigs

VALORACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD DE DOS MOLECULAS ORGANOSULFORADAS PROCEDENTES DEL AJO (*Allium sativum*), PTS y PTSO, Y SU COMBINACIÓN, FRENTE A SALMONELLA ENTERICA Y ESCHERICHIA COLI.

Arandilla E.¹, Argüello, H.², López R.¹, Coscojuela P.¹, Carvajal, A.², Rubio P.²

¹Prebia Feed Extracts SL. Plaza del Pan, Nº11. Oficina 3.6. Apartado de correos 45600 Talavera de la Reina (Toledo).España.

² Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.E-mail: earandilla@prebia.es

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades digestivas son en la actualidad uno de los principales problemas de la ganadería y condicionan muchas veces su rentabilidad. Los agentes etiológicos de estas enfermedades son muy diversos, y varían entre las especies afectadas. En el ganado porcino, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Brachyspira hyodysenteriae*, son agentes bacterianos que con frecuencia se encuentran en las granjas asociados a cuadros diarreicos y/o con empeoramiento de los índices productivos. A menudo estos agentes se encuentran causando infecciones mixtas. La intensificación de la ganadería y, en muchos casos, unas inadecuadas prácticas de manejo e higiene agravan las consecuencias productivas de las enfermedades digestivas. El uso de antibióticos, muchas veces inadecuado, ha originado problemas de resistencia bacteriana, que hace más difícil aún, el control de estos patógenos en las granja. Por otra parte, la disponibilidad de antibióticos se ve cada día más limitado por cuestiones legales.

Las propiedades antimicrobianas de muchos extractos vegetales han sido ampliamente estudiadas por numerosos autores. (Domingo & López Brea, 2003; Suppakul et al, 2003; Wallace, 2004) En lo que se refiere al ajo (*Allium sativum*), la primera referencia de su uso se encuentra en el Código de Ebers, un papiro egipcio fechado en 1550 a. C., donde se citan muchos medicamentos elaborados con el ajo para combatir picaduras de insectos, tumores, cardiopatías, dolor de cabeza y dolores generales. Hasta el momento los diferentes estudios que se han llevado a cabo con especies vegetales del género *Allium*, especialmente el ajo, han demostrado poseer un amplio espectro de actividad antimicrobiana, frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Cavallito & Baiely, 1944; Reuter et al, 1996). El ajo no solo tiene actividad antibacteriana, también tiene actividad antivírica, antifúngica y antiprotozoaria (Harris et al, 2001). Hidalgo et al, han demostrado la actividad de dos tiosulfatos, PTS (propil propano tiosulfato) y PTSO (propil propano tiosulfonato) frente a *Brachyspira hyodysenteriae*.

El objetivo de este trabajo fue comprobar la actividad antimicrobiana de esas dos moléculas organosulfuradas, procedentes de la destilación del ajo, el propil propano tiosulfato (PTS) y el propil propano tiosulfonato (PTSO), y su combinación en un producto comercial (Garlicon® Prebia Feed Extracts SL, Talavera de la Reina) frente a una colección de aislados de *Escherichia coli* y de diferentes serovares de *Salmonella enterica*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se probaron 20 aislados de *Escherichia coli*, procedentes de muestras tomadas en explotaciones porcinas distribuidas por la geografía española, y remitidas al laboratorio de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de León

Del mismo modo, se probaron 67 aislados de *Salmonella enterica*. De ellos, 60 pertenecían a la colección de aislados de la Unidad de Enfermedades Infecciosas citada y procedían de muestras tomadas en explotaciones de ganado porcino de todo el territorio español. Los 7 aislados restantes procedían de la Colección Española de

Cultivos Tipo (CECT). En todos los casos, el aislamiento de Salmonella de muestras de campo se llevó a cabo siguiendo el protocolo marcado por la normativa ISO (6579:2002). Los aislados positivos fueron serotipados siguiendo el esquema propuesto por Kauffman-White en 1930, empleando antisueros comerciales (Bio-Rad y Statens Serum Institut).

La elección de los aislados de la colección de la Unidad de Enfermedades Infecciosas se llevó a cabo teniendo en cuenta aislados más frecuentemente en ganado porcino en España. Se incluyeron los siguientes aislados: S. Typhimurium (28 aislados), S. Rissen (10 aislados), S.4,[5],12:i:- (8 aislados), S. Derby (7 aislados), S. Enteritidis (5 aislados), S. Anatum (3 aislados), S. Cholerasuis (2 aislados), S. Infantis (1 aislado), S. Newport (1 aislado), S. London (1 aislado) y S. Kapemba (1 aislado).

Los aislados se sembraron en placas de agar triptonsoja y se incubaron en aerobiosis a 37°C durante 24 horas, tras las cuáles se preparó el cultivo líquido empleando 25 ml de caldo infusión cerebro corazón en los que se resuspendió una colonia de cada aislado. El cultivo líquido se mantuvo a una temperatura de 37°C y en agitación a 150 rpm durante 6 horas hasta alcanzar una concentración de 10⁸ UFC/ml.

Para determinar la sensibilidad antimicrobiana de los productos estudiados, Garlicon® PTS y PTSO, se realizó un sistema de dilución en microplaca de 48 pocillos con concentraciones crecientes de cada producto. Tanto para S. enterica como para E.coli se probaron las concentraciones siguientes: Garlicon® (0,83 a 5 µl/ml), PTS y PTSO (0,063 a 0,63 µl/ml). Las placas fueron inoculadas con 0,1 ml por pocillo de una suspensión bacteriana con 10⁶ UFC/ml e incubadas a 37°C y 140 rpm durante 20 horas. Seguidamente se procedió a determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), concentración más baja que inhibió la multiplicación bacteriana y la concentración mínima bactericida (CMB), concentración más baja con efecto letal sobre las bacterias, obteniéndose los resultados que se muestran a continuación.

RESULTADOS

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana de los compuestos objeto de este estudio frente a E. coli. La tabla 2 muestra los resultados frente a S. enterica, indicando además los serotipos, de los que al menos se han probado tres aislados diferentes. Frente a E.coli, el PTSO es la molécula más activa, seguida del PTS. El producto comercial Garlicon® tiene una actividad inferior con respecto a las dos moléculas que lo forman, debido a que la proporción que representan ambas moléculas en su composición es del 40%, siendo el 60% restante excipientes.

Tabla 1. Concentración mínima inhibitoria (CMI µl/ml) y concentración mínima bactericida (CMB µl/ml) 50 y 90 de Garlicon®, PTS y PTSO frente a diferentes aislados de Escherichia coli de origen porcino.

Escherichia coli					
CMI90 / CMB90 (µl/ml)			CMI50 / CMB50 (µl/ml)		
GARLICON®	PTS	PTSO	GARLICON®	PTS	PTSO
0,25/0,5	0,25/1	0,063/0,125	0,25/0,5	0,25/1	0,063/0,125

Del mismo modo, el PTSO es la molécula que mayor actividad tiene frente a todos los serotipos de S. enterica, seguido por el PTS y del producto comercial Garlicon®. Los resultados son bastante homogéneos para los diferentes serotipos y no existen diferencias significativas de sensibilidad entre ellos. La actividad antimicrobiana de ambas moléculas y del producto comercial frente a E.coli fue ligeramente inferior a la observada frente a S.enterica.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI $\mu\text{l/ml}$) y concentración mínima bactericida (CMB $\mu\text{l/ml}$) 50 y 90 de Garlicon[®], PTS y PTSO frente a diferentes serotipos de Salmonella enterica aislados de porcino.

<i>Salmonella enterica subsp. enterica</i>						
Serotipo	CMI90/CMB90 ($\mu\text{l/ml}$)			CMI50/CMB50 ($\mu\text{l/ml}$)		
	Garlicon [®]	PTS	PTSO	Garlicon [®]	PTS	PTSO
Typhimurium	2,5/5	0,4/0,5	0,13/0,25	2/2,5	0,25/0,42	0,13/0,25
Rissen	1,25/2,75	0,31/0,63	0,13/0,26	1,25/2,5	0,31/0,5	0,13/0,25
Derby	2,5/5	0,31/0,5	0,13/0,25	2,081/2,5	0,31/0,42	0,13/0,25
O:4[5],12:i:-	1,67/2,5	0,34/0,48	0,13/0,25	1,25/1,67	0,31/0,42	0,13/0,25
Enteritidis	2,25/4,1	0,13/0,25	0,25/0,31	1,46/1,83	0,13/0,25	0,19/0,28
Anatum	2,5/5	0,42/0,5	0,13/0,25	2,5/5	0,42/0,5	0,13/0,25
Resultados globales	2,5/5	0,42/0,5	0,13/0,25	1,67/2,5	0,31/0,42	0,13/0,25

DISCUSIÓN

Este estudio muestra la actividad de moléculas de origen natural frente a dos bacterias causantes de importantes infecciones digestivas en el ganado porcino. En líneas generales, el producto comercial tiene una CMB 90 frente a *E. coli* de 5 $\mu\text{l/ml}$ (ppm), mientras que para los diferentes serovares de *S. entérica* la CMB 90 varía entre los 2,5 y los 5 $\mu\text{l/ml}$ (ppm). Los datos presentados abren la posibilidad de recurrir a productos de origen vegetal, eficaces y económicos para el control de estas infecciones.

Es especialmente destacable la actividad de los productos probados frente a los serovares de *Salmonella enterica* más prevalentes en la Unión Europea. Según los datos de la agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), actualmente la salmonelosis es la segunda zoonosis en importancia por el número de casos anuales diagnosticados en el hombre. La salmonelosis en la Unión Europea está sometida a control obligatorio en la producción avícola y en un futuro próximo también lo estará en la producción porcina, según indica el Reglamento (CE) 2160/2003.

Nuestros datos abren la posibilidad de realizar estudios in vivo que validen los resultados in vitro.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cavallito CJ, Baiely JH. 1944. Science. 100 (2600): 390
- Domingo D, López-Brea M. 2003. Rev Esp Quimioter. 16 (4): 385-393.
- Harris JC, et al., 2000. Microbiology. 146 Pt 12: 3119-27.
- Hidalgo A. et al, 2011. Proc. III Simposio sobre Microbiología Digestiva, Zaragoza.
- Reuter HD, et al., 1996. The Science and Therapeutic Applications of Allium sativum L. and Related Species 2nd ed. (Koch HP & Lawson DL, eds.), pp 135-212. William & Wilkins, Baltimore, MD.
- Suppakul P, et al., 2003. J Agric Food Chem. 51(11): 3197-3207.
- Wallace RJ. 2004. Proc Nutr Soc. 63: 621-629.

IN VITRO EVALUATION OF THE ACTIVITY OF TWO GARLIC COMPOUNDS (PTS and PTSO) AND ITS COMERCIAL PREPARATION FACED ON DIFFERENTS PORCINE DIGESTIVE PATOGENS.

ABSTRACT This study shows the antimicrobial activity of two garlic compounds (PTS and PTSO), and its commercial preparation called Garlicon[®]. Data from this study shows clear bactericidal effect in vitro, faced against *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from Spanish porcine farms.

Keywords: *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, garlic, antimicrobial activity.

SENSIBILIDAD DE *Brachyspira hyodysenteriae* Y DE *Campylobacter* spp. A MOLÉCULAS DERIVADAS DEL AJO

Álvaro Hidalgo¹, Ana Carvajal¹, Pedro Rubio¹

¹Enfermedades Infecciosas y Epidemiología. Facultad de Veterinaria de León.
alvaro.hidalgo@unileon.es

INTRODUCCIÓN

Los antibióticos se han utilizado para tratar las enfermedades digestivas de etiología bacteriana durante décadas, tanto en humanos como en animales. Sin embargo, la detección de aislados de bacterias patógenas digestivas resistentes a uno o varios grupos de antibióticos es un hallazgo cada vez más frecuente (CMVP, 2010), disminuyendo, por lo tanto, las opciones para tratar eficazmente las enfermedades que causan. Este hecho destaca la necesidad de contar con nuevas alternativas que nos ayuden a combatir y controlar las enfermedades digestivas. Entre dichas alternativas destaca la inclusión de probióticos, sustancias acidificantes o extractos de plantas en las dietas de los animales. Estos últimos poseen un gran potencial, resultando en la actualidad una opción cada vez más atractiva.

En Europa, las especies bacterianas del género *Campylobacter* son la causa más importante de gastroenteritis bacterianas en humanos, habiendo sido responsables de más de 200.000 casos en el año 2007 (EFSA, 2009). Si bien *Campylobacter jejuni* es la especie que se aísla con más frecuencia en estos casos, otras especies como *C. lari* o *C. upsaliensis* también se asocian con enfermedad (Tauxe, 1992).

La disentería porcina, producida por *Brachyspira hyodysenteriae*, es una de las principales enfermedades digestivas del ganado porcino. En España, su tratamiento y control están basados principalmente en la utilización de antibióticos, ya que no hay ninguna vacuna comercial disponible en la actualidad. Sin embargo, cada vez es más frecuente el aislamiento de cepas de *B. hyodysenteriae* resistentes a los principales antibióticos usados en el tratamiento de esta enfermedad (Hidalgo et al., 2009).

Las propiedades beneficiosas del ajo (*Allium sativum*) son conocidas desde la antigüedad, destacando entre ellas su poder antimicrobiano. Recientemente, se ha conseguido obtener un extracto purificado de dos moléculas de *Allium sativum* (DMC Research Center SL, Granada, España). Estos derivados son el propil propil tiosulfonato (PTS) y el propil propil tiosulfonato (PTSO).

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad in vitro del PTS y el PTSO y de su combinación en un producto comercial (Garlicon®) frente a *B. hyodysenteriae*, *Campylobacter jejuni* y *C. upsaliensis*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento de *Brachyspira hyodysenteriae* : En este estudio se utilizaron un total de cuarenta y siete aislados de *B. hyodysenteriae* de la colección de bacterias de la Unidad de Enfermedades Infecciosas y Epizootiología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Los aislados bacterianos fueron obtenidos a partir de muestras de heces de cerdos con diarrea enviadas por veterinarios clínicos para el diagnóstico de laboratorio durante los años 2001-2009.

Los aislados de *B. hyodysenteriae* se cultivaron en agar sangre, incubándose en condiciones de anaerobiosis (80% nitrógeno, 10% dióxido de carbono y 10% hidrógeno) a 39°C.

Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento de *Campylobacter* spp.:

Un total de doce aislados de *Campylobacter* spp., incluyendo ocho aislados de *Campylobacter jejuni* y cuatro de *C. upsaliensis*, fueron utilizados en este estudio.

Los aislados de *Campylobacter* spp. se incubaron en condiciones de microaerofilia a 42°C.

Determinación de la sensibilidad al PTS y al PTSO:

Se diseñó un antibiograma utilizando placas de 48 pocillos para determinar la sensibilidad de las bacterias estudiadas al PTS, al PTSO y a una combinación de ambos que denominamos PTS+PTSO (17,5% de PTS y 82,5% de PTSO) [DMC Research Center SL, Granada, España] mediante dilución en medio líquido. Para ello se dispuso de diluciones dobles seriadas de PTS, PTSO y PTS+PTSO en un rango de concentraciones que fue desde 6,25 a 400 $\mu\text{g/ml}$.

La sensibilidad de *Campylobacter jejuni* y *C. upsaliensis* al PTS, PTSO y PTS+PTSO se determinó siguiendo la técnica descrita por McDermott et al. (2005). La sensibilidad de *B. hyodysenteriae* a estas moléculas se comprobó mediante una técnica de dilución en medio líquido descrita por Karlsson et al. (2003). En ambos casos se calculó la concentración mínima de cada compuesto que inhibió el crecimiento bacteriano (CMI). Además, se calculó la concentración de PTS y PTSO que inhibió el crecimiento del 90% (CMI₉₀) de los aislados de *B. hyodysenteriae* y *Campylobacter* spp.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las pruebas de sensibilidad al PTS, PTSO y PTS+PTSO de *B. hyodysenteriae* y de *Campylobacter* spp. se muestran en la figura 1 y 2, respectivamente.

Este estudio muestra que tanto el PTS como el PTSO son moléculas con actividad antimicrobiana in vitro frente a aislados de *B. hyodysenteriae* y de *Campylobacter* spp. Además, el PTS es más activo frente a *B. hyodysenteriae* que el PTSO [CMI₉₀ (PTS y PTSO)= 100 y >400 $\mu\text{g/ml}$], llegando a inhibir el crecimiento de todos los aislados en el rango de concentraciones probadas. Del mismo modo, se requirió una menor concentración de PTS que de PTSO para inhibir el crecimiento de los aislados de *Campylobacter* spp. [CMI₉₀ (PTS y PTSO)= 50 y 200 $\mu\text{g/ml}$]. En este caso, la diferencia fue de dos diluciones dobles. La combinación de PTS y PTSO mostró una actividad menor que el PTS, pero mayor que el PTSO frente a los dos patógenos. Además, es de destacar que los aislados de *Campylobacter* spp. presentaron CMI más bajas que las halladas por Ross et al. (2001) al determinar la sensibilidad de estas bacterias al aceite de ajo.

La actividad antibacteriana mostrada por las moléculas de PTS y PTSO frente a *B. hyodysenteriae* y *Campylobacter* spp. en las pruebas de sensibilidad in vitro indican que estos compuestos pueden presentar cierto interés en el tratamiento y control de las enfermedades que causan, siendo necesarios estudios clínicos que lo confirmen.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

•CMVP (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use), 2010. Reflection paper on the use of macrolides, lincosamides and streptogramins (MLS) in food-producing animals in the European Union: development of resistance and impact on human and animal health. •EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. •Hidalgo, A., Carvajal, A., García-Feliz, C., Osorio, J., Rubio, P. 2009. Res Vet Sci. 87, 7-12. •Karlsson M, Fellström C, Gunnarsson A, Landén A, Franklin A. 2003. J. Clin. Microbiol. 41, 2596-604. • McDermott PF, Bodeis-Jones SM, Fritsche TR, Jones RN, Walker RD. 2005. J. Clin. Microbiol. 43, 6136-8. •Ross, Z.M., O'Gara, E.A., Hill, D.J., Sleightholme, H.V., Maslin, D.J. 2001. Appl. Environ. Microbiol. 67, 475-80. •Tauxe, R.V. 1992. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrial nations. in: Current Status and Future Trends. I. Nachamkin, M. J. Blaser, and L. S. Tompkins, eds. American Association of Microbiologists, Washington, DC.

Agradecimientos: Los autores agradecen a Anselmo Perea y Antonio Arenas, de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba la cesión de las cepas de *Campylobacter* spp. empleadas en este estudio.

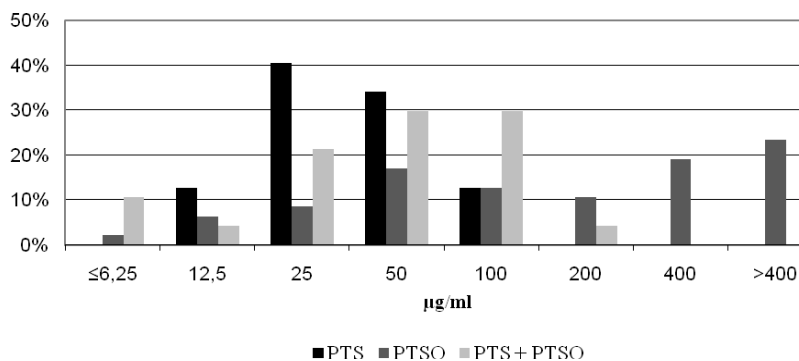


Figura 1 .Distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias de PTS, PTSO y PTS+PTSO para 47 aislados españoles de *B. hyodysenteriae*.

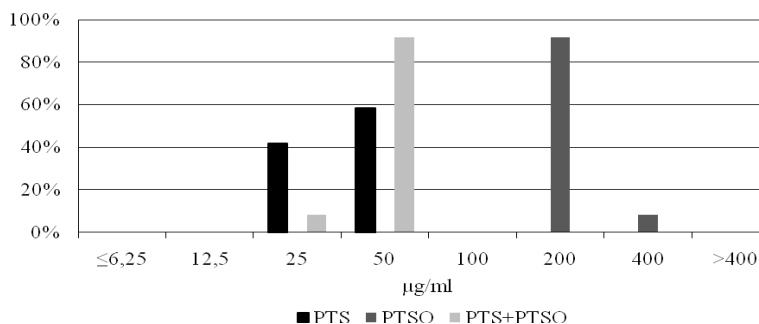


Figura 2 .Distribución de las concentraciones mínimas inhibitorias de PTS, PTSO y PTS+PTSO para 12 aislados de *Campylobacter* spp.

SUSCEPTIBILITY OF *Brachyspira hyodysenteriae* AND *Campylobacter* spp. TO GARLIC DERIVATIVES

ABSTRACT: During the last years, antimicrobial resistance among enteric pathogens has been an increasing finding in developed countries. As a consequence, the number of available antimicrobials to treating and controlling diseases caused by these bacteria has decreased alarmingly. Therefore, new options such as probiotics or plant extracts are highly desirable to assisting in the treatment of enteric diseases with a bacterial etiology. This study aimed to investigate the activity of two garlic derivatives, propyl propyl thiosulfinate (PTS) and propyl propyl thiosulfonate (PTSO), against isolates of *Brachyspira hyodysenteriae* and *Campylobacter* spp. Susceptibility test were performed following micro broth dilution methods and minimum inhibitory concentrations were calculated for each substance. Our results indicated that both derivatives, PTS and PTSO, have antimicrobial activity against *B. hyodysenteriae* [MIC₉₀ (PTS and PTSO)= 100 and >400 µg/ml] and *Campylobacter* spp. [MIC₉₀ (PTS and PTSO)= 50 and 200 µg/ml]. The results of the in vitro susceptibility testing suggest that clinical trials should be performed to evaluate the in vivo activity of PTS and PTSO against these enteric pathogens.

Keywords : *Brachyspira hyodysenteriae*, *Campylobacter* spp., MIC, garlic derivatives.

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD METANOGENICA Y CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUIMICA DE LA GALLINAZA Y EL ESTIERCOL DE CONEJO

Ferrer, P., Cambra-López, M., Borrás, M., Cerisuelo, A., Maset, V*.

*Centro de Investigación de Tecnología Animal (CITA-IVIA). Pol. de la Esperanza Nº 100. 12400, Segorbe, Castellón, España. E-mail: maset_ver@gva.es.

INTRODUCCIÓN

El tracto intestinal de los vertebrados alberga un gran número de microorganismos que permiten la degradación de los biopolímeros orgánicos (Hackstein y Alen, 1996). Como resultado de esta degradación, se generan ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2). No obstante, acumulaciones excesivas de H_2 pueden inhibir el metabolismo de las bacterias fermentativas, por ello bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas eliminan el H_2 producido en la fermentación, estableciéndose una relación de simbiosis entre estas poblaciones bacterianas. Sin embargo las bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas, además de H_2 , consumen AGV producidos en la fermentación, lo que supone una pérdida de energía para el animal hospedador. Además, el metano (CH_4) producido por las arqueas metanogénicas es un gas efecto invernadero, siendo el rumen, en primer lugar seguido de la descomposición anaeróbica de los estiércoles, las dos principales fuentes de emisión de este gas de la ganadería (Zhou et al., 2007).

La actividad bacteriana, en especial, la actividad metanogénica de las heces puede ser medida in vitro por medio de técnicas de acumulación de gas. Estas técnicas se llevan a cabo en condiciones estrictamente anaeróbicas y han sido ampliamente utilizadas para examinar la actividad microbiana de fuentes como el rumen (Theodorou, 1994), contenidos gastrointestinales y heces encerdos (Bauer et al., 2004; Awati et al, 2005; Bindelle et al, 2007) y contenido cecal de conejos (Lavrencic et al, 2007). Sin embargo, esta técnica se ha utilizado raras veces para estudiar la actividad microbiana de las heces de conejo y de las aves. La obtención de información acerca del potencial metanogénico de las heces de estas especies es necesaria para estimar las emisiones de CH_4 de este tipo de estiércoles durante el almacenamiento. El objetivo de este trabajo es evaluar la actividad metanogénica del estiércol de conejo y de la gallinaza, a través de la medición in vitro de la producción de CH_4 y CO_2 de estos sustratos y el análisis de su composición físico-química.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estiércol utilizado en este estudio se obtuvo de ocho granjas ubicadas en la provincia de Valencia, cuatro de conejos y cuatro de gallinas ponedoras. Las muestras se tomaron en distintos puntos de la fosa o de la cinta situada bajo las jaulas de los animales y del estiércol almacenado en el exterior de las naves. Las muestras fueron conservadas a 4°C hasta el procesamiento en el laboratorio. Cada una de las muestras fue dividida en alícuotas, previa determinación del pH, y congeladas posteriormente a -30°C para su análisis físico-químico. Se analizó el contenido en sólidos totales (ST), sólidos volátiles (SV), cenizas (ASH), nitrógeno total Kjeldahl (NTK) y pH según la metodología propuesta por la APHA (2005). La concentración de los ácidos grasos volátiles (AGV) se determinó por cromatografía de gases según el método descrito por Jouany (1982) con la adición de un patrón interno (valérico 4-metil). La fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y la lignina (ADL) se determinaron de acuerdo con el procedimiento empleado por Van Soest (Van Soest et al., 1991). Todas las muestras fueron analizadas por duplicado.

Los ensayos in vitro para determinar la producción de gas y la concentración de CH_4 se realizaron en botellas de 120ml, por triplicado. Cada botella se llenó hasta un volumen de 50% de su capacidad, además se añadió una solución de macro y micro nutrientes de acuerdo a la norma UNE-EN 11734:1999. Las botellas se incubaron a $35 \pm 1^\circ C$ durante un mínimo de 42 días y un máximo de 105 días hasta que el error estándar del promedio de la producción de gas durante las últimas tres semanas fuese inferior al 5%. La producción de gas se midió dos veces por semana con un manómetro (Delta Ohm, HD 9220). La concentración de CH_4 se analizó por cromatografía con un cromatógrafo de gases (Thermo, Milán, Italia), equipado con un split / splitless y un detector de ionización de llama. Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa estadístico SAS System® Software (versión 9.0, SAS Inst. Inc., Cary, NC) mediante un ANOVA (procedimiento GLM de SAS®).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis físico-químico de composición del estiércol de aves y de conejos se resumen en la Tabla 1. El contenido en ST, SV, pH y fibra fue significativamente superior ($P < 0.05$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza. Sin embargo, el contenido en NTK fue significativamente inferior ($P < 0.05$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza así mismo, el contenido en AGV fue inferior ($P < 0.10$) en el estiércol de conejo en comparación con la gallinaza. Estas diferencias en la composición de los estiércoles de conejo y aves pueden deberse a diferencias en la fisiología digestiva entre estas dos especies. A diferencia de las aves, los conejos exhiben un mecanismo digestivo para incrementar la eficiencia de utilización de nitrógeno basado en la producción de dos tipos de heces, heces duras y blandas. Las heces blandas, con mayores contenidos en nitrógeno suelen ser ingeridas (coprofagia) por los conejos una vez defecadas para aumentar la eficiencia de la digestión de la materia seca, principalmente nitrógeno. Sin embargo, la eficiencia de utilización de la fracción fibrosa no incrementa mediante este proceso (Slade y Hintz, 1969), esto y el hecho de que los piensos que se formulan para conejos presentan mayores niveles de fibra explicaría el mayor contenido de todas las fracciones de fibra analizadas en el estiércol de conejo.

La Tabla 1 presenta también, la producción de biogás acumulada (compuesta por CH_4 y CO_2) y la concentración de CH_4 obtenida tras la incubación in vitro de los estiércoles. Tradicionalmente, el CH_4 ha sido considerado como un indicador del proceso de fermentación, siendo proporcional al grado de digestión microbiana de los carbohidratos (Jonhson y Ward, 1996). Tanto los conejos como los rumiantes consumen una mayor cantidad de fibra que las aves de corral y por lo tanto deberían tener una mayor capacidad fermentativa que éstas. Sin embargo las emisiones de metano del estiércol de conejo resultaron significativamente inferiores ($P < 0,05$) a las de la gallinaza. El elevado contenido en fibra no degradable y lignina en las heces de conejo podría explicar estas diferencias ya que la eficiencia en la producción de metano de residuos lignocelulosos puede ser limitada por la baja biodegradabilidad de la lignina (Wang, 2009). En conejos, la fibra es necesaria principalmente para reducir el tiempo de retención de los sustratos en el tracto gastrointestinal asegurando el buen desarrollo del ritmo circadiano, y para favorecer el crecimiento de bacterias y mejorar la salud intestinal. No obstante, tiempos de retención más cortos en el intestino grueso pueden suponer una baja concentración de bacterias metanogénicas en el tracto intestinal. Además, el menor contenido en bacterias metanogénicas en el estiércol de conejo también puede deberse a un factor genético ya que como sugieren Hackstein y van Alen (1996), hay especies estrictamente vegetarianas, como los pandas que no emiten CH_4 , mientras que reptiles depredadores como los cocodrilos y algunas especies de serpientes liberan grandes cantidades de este gas. La metanogénesis supone un menor rendimiento energético de los AGV en el tracto intestinal de los animales vertebrados, ya que éstos los consumen las bacterias en lugar del huésped, por lo que menores concentraciones de bacterias metanogénicas podrían suponer una mejor adaptación genética en estas especies de vertebrados a la utilización energética de la dieta (Váradyová et al 2000).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. 2005. 21th Edn. Greenberg A. E.; Clesceri, L. S., Eaton, A.D. (Eds.) American Public Health Association, Washintong DC, USA.
- Awati, A., Konstantinov, R., Williams B. A., Akkermans A.D.L., Bosch M.W., Smidt, H. y Verstege, M.W.A. 2005. *J Sci Food Agric* 85:1765–1772.
- Bauer, E., Williams, B. A., Bosch, M. W., Voigt, C. Mosenthin, R. y Verstege, M.W.A. 2004. *J Sci Food Agric* 84: 2097–2104.
- Bindelle, J., Buldgen, A., Boudry C., Leterme P. 2007. *Animal Feed Science and Technology* 132: 111–122.
- Hackstein, J. H. P. y van Alen, T. A. 1996. *Evolution*, 50(2): 559-572.
- Johnson, D. E. y Ward, G. M. 1996. *Environmental Monitoring and Assessment* 42:133-141.
- Jouany, J P. 1982. *Scienc. Alimen.* 2(2): 131-144.
- Lavrencic, 2007. *Animal*, 1:241-248.
- SAS. 2001. *SAS User's Guide: Statics*. Ver. 9.0. Cary, N.C.: SAS Institute Inc.
- Slade, L. M. y Hintz, H. F. 1969. *J Anim Sci* . 28:842-843.
- Van Soest, P.J.; Robertson, J.B; Lewis, B.A. 1991. *J. Dairy Sci.* 74(10), 3583-3597.
- Theodorou, M. K. 1994. *Anim Feed Sci Tech* 48(3/4), 185-197.
- Váradyová, Z., Zeleňák, I.,

Siroka, P. 2000. Anim Feed Sci Tech83: 127-138. •Vermorel, M., Jouany, J.-P., Eugène, M., Sauvan, D., Noblet, J., Dourmad J.-Y. 2008. INRA Prod. Anim., 21 (5): 403-418. •Wang, G. 2009. Waste Manage. 29(11), 2830-2835. •Zhou, J.B., Jiang M.M., Chen, G.Q. 2007. Energy Policy 35: 3759–3767.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Agrobiogás, financiado por la fundación Agroalimed perteneciente a la Conselleria de Agricultura de la Comunidad Valenciana.

Tabla1. Composición química y producción de metano y de biogás in vitro del estiércol de conejo y la gallinaza.

	Gallinaza	Estiércol de conejo	EEM	P-valor
Sólidos totales, g kg ⁻¹ MF	300,48	460,50	23,217	<0,01
Sólidos volátiles, g kg ⁻¹ MF	208,44	336,25	29,210	<0,05
pH	6,92	8,19	0,273	<0,05
Nitrógeno total Kjeldahl, g kg ⁻¹ MF	20,57	11,54	2,569	<0,05
Fibra neutro detergente, g kg ⁻¹ MF	87,26	244,17	14,121	<0,001
Fibra ácido detergente, g kg ⁻¹ MF	37,08	154,43	6,500	<0,001
Lignina, g kg ⁻¹ MF	4,23	44,48	1,562	<0,001
Ácidos grasos volátiles, g kg ⁻¹ MF	13,35	1,08	4,365	<0,1
Metano, ml CH ₄ g ⁻¹ SV _i	93,86	57,64	7,892	<0,05
Biogás acumulado, ml biogás g ⁻¹ SV _i	341,21	207,19	30,234	<0,05

EVALUATION OF LAYING HENS AND RABBIT MANURE IN VITRO METHANOGENIC ACTIVITY AND PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION

ABSTRACT: Organic matter degradation in anaerobic conditions leads to the generation of volatile fatty acids, carbon dioxide, hydrogen and methane. Moreover, the methane produced by methanogenic archaea is a greenhouse gas, being anaerobic degradation during manure storage one of major methane emission sources within livestock production. The objective of this study was to evaluate methanogenic activity in rabbit manure and laying hen manure using in vitro techniques based on gas accumulation, to measure biogas (methane and carbon dioxide) production and determine manure physico-chemical composition. Manure from eight different farms was sampled and introduced in batch anaerobic incubators, stored at 35°C. Manure composition showed significant differences ($P < 0.05$) on total solids, volatile solids, pH and fibre content between species, being higher in rabbit manure compared with laying hen manure, whereas total Kjeldahl nitrogen content was significantly lower ($P < 0.05$) in rabbit manure. The biogas values varied from 341 to 207 L biogas kg⁻¹ VS. Methane emissions from rabbit manure were significantly lower ($P < 0.05$) compared with laying hen manure.

Keywords: methane, manure composition, livestock, anaerobic degradation

GENOTIPADO DE CEPAS DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EN CONEJOS AFECTADOS POR ENTEROPATÍA EPIZOOTICA

Menoyo, D., García, C., Jarava, M. y De Blas, C.

Departamento de Producción Animal, Universidad Politécnica de Madrid, 28040 Madrid, España. David.menoyo@upm.es

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades entéricas de origen bacteriano en las fases de crecimiento y cebo siguen siendo un factor importante que influye tanto en la sanidad como en la productividad de los animales domésticos, constituyendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en conejos en crecimiento (Marlier et al., 2003). Desde su aparición en granjas europeas en 1997, la Enteropatía Epizootica del Conejo (EEC) ha constituido una fuente de pérdidas económicas importantes en el sector cunícola (Licois et al., 2006). Aunque no se ha identificado su etiología, investigaciones recientes sugieren una o varias bacterias como agentes causales (Huybens et al., 2008). Además, varios autores han mostrado que Clostridium perfringens puede jugar un papel principal en esta patología, debido a su elevada proliferación en el tracto de los animales afectados por EEC (Marlier et al., 2003). Romero et al. (2009) encontraron una correlación positiva entre elevados contenidos cecales de Clostridium perfringens ($> 2 \times 10^9$ ufc/g) y la aparición de síntomas de EEC durante el periodo de cebo. Asimismo, la frecuencia de detección de Clostridium perfringens en contenido digestivo (y también, en menor proporción, Campylobacter spp.) analizada por técnicas RFLP fue correlacionada positivamente con la mortalidad por ERE (Chamorro et al., 2007).

Clostridium perfringens es una bacteria Gram positiva anaerobia, capaz de formar esporas. Está ampliamente extendida en el ambiente y puede ser aislada a partir de suelo, aguas residuales, heces, alimento y tracto intestinal de humanos y animales. La patogenicidad del organismo se asocia con varias toxinas. Dependiendo de la producción y combinación de las distintas toxinas (alfa (α), beta (β), epsilon (ϵ), iota (ι), beta-2 (β -2) y enterotoxina (cpe)), las cepas de Clostridium perfringens se dividen en distintos toxinotipos, que presentan varios genotipos posibles según sean capaces de producir una combinación u otra de toxinas (Baums et al., 2004). El objetivo del presente trabajo es genotipar mediante la técnica de PCR los toxinotipos de Clostridium perfringens asociados a la EEC en muestras obtenidas de conejos enfermos. La identificación de los distintos toxinotipos es esencial para entender y prevenir la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: Un total de 72 conejos Nueva Zelanda x California se incluyeron en este estudio. Tras el destete a los 35 días, se efectuó un seguimiento diario de los animales para detectar síntomas de EEC: disminución de la ingesta de alimento, diarrea acuosa, distensión de estómago e intestino delgado y contenido cecal compactado o líquido (Licois et al., 2006). Tanto de los animales que causaron baja durante el cebo como de aquellos sacrificados con síntomas claros de EEC se tomaron muestras de contenido cecal o ileal y/o cecotrofos y se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. Todas las muestras fueron recogidas entre los meses de enero de 2008 y marzo de 2009 en las instalaciones del Departamento de Producción Animal de la E.T.S.I. Agrónomos que se encuentran afectadas y diagnosticadas de EEC.

Extracción de ADN: Se utilizaron dos métodos de extracción uno para las muestras recogidas durante enero-junio de 2008 y otro para las muestras de noviembre 2008 y marzo 2009. En el primer caso la muestras fueron diluidas (1/10) y homogeneizadas en agua de peptona (bioMérieux, Marcy l'Étoile, France). Posteriormente se sembraron 0.5ml de la dilución en placas de agar sangre al 5% (bioMérieux). Las placas se incubaron en anaerobiosis a 37°C durante 24 horas. Las colonias resultantes que mostraban el doble halo característico de Clostridium perfringens fueron de nuevo sembradas en agar sangre bajo las mismas condiciones hasta obtenerse un cultivo puro. La extracción de ADN se realizó a partir de los cultivos puros utilizando cloroformo y tratamientos de shock térmico. Para el resto de las muestras se aplicó el método de extracción empleado por Gurjar et al. (2008) con pre-enriquecimiento de la muestra en medio reforzado para Clostridium y posterior

extracción de ADN con el kit de QIAGEN (QIAmp DNA Stool Mini Kit for Pathogen Detection).

Condiciones de PCR: Para la identificación de las secuencias diana de cada una de las toxinas se utilizaron los juegos de cebadores publicados por Baums et al. (2004) y Gurjar et al. (2008). En la Tabla 1 podemos ver las secuencias nucleotídicas de los cebadores empleados indicándose además el tamaño del amplicón. Por cada muestra se hicieron 3 PCR Duplex, uno para amplificar las toxinas α e ι , otro para la amplificación de β y $\beta 2$, y el último para detectar las toxinas ε y enterotoxina. La concentración de magnesio, cebadores y ADN polimerasa (Applied Biosystems) así como el programa de temperaturas del termociclador se ajustaron experimentalmente en base a lo indicado en Baums et al. (2004) y Gurjar et al. (2008).

Análisis de los productos de PCR: Los fragmentos amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa y se visualizaron bajo luz UV con el analizador de imágenes Gel Doc 1000 System (Bio-Rad, Munich, Germany).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los resultados obtenidos del genotipado de las 72 muestras recogidas en animales con síntomas de EEC. En el 34.72 % de los aislados no se detectó ningún tipo de toxinas. Este resultado coincide con lo observado por Marlier et al. (2006) que no fueron capaces de detectar la toxina alfa en algunos animales afectados por EEC. El 62.5% de las cepas aisladas correspondieron al toxinotipo A de *C. perfringens* siendo la mayoría positivas para la toxina α exclusivamente (58.33%), encontrándose además una muestra con genotipo α - $\beta 2$ y dos con genotipo α -cpe. Estos datos coinciden con lo observado por Licois et al. (2006) en conejos diagnosticados con enteropatía mucoide. Estos autores detectaron la presencia de ambos genotipos siendo el más común el toxinotipo A con toxina α en animales con contenido cecal líquido y el genotipo α - $\beta 2$ en animales con ciego compactado. Resultados similares fueron observados por Cocchi et al. (2007) en un muestreo de campo con 150 animales afectados por la enteropatía. El gen para la enterotoxina (cpe) también ha sido identificado en conejos afectados por EEC (Licois et al. 2006). La presencia de este gen en cepas de toxinotipo A esta muy relacionada con la aparición de diarreas en animales domésticos (Songer, 1996), por lo que sería necesario estudiar en profundidad el papel de las distintas toxinas α , $\beta 2$ y cpe asociadas al toxinotipo A en conejos afectados por EEC. En el presente estudio un 2.77% de las muestras fueron identificadas como toxinotipo E al mostrar genotipos α - ι y α , ι -cpe. La presencia de estos genotipos se ha identificado con enterotoxemias en animales domésticos incluido el conejo (Songer, 1996). Sin embargo, cabe destacar la similitud funcional de la toxina ι de *C. perfringens* con la toxina letal producida *Clostridium spiriforme* el cual ha sido aislado en conejos afectados por EEC (Marlier et al., 2006). En conclusión, en conejos afectados por EEC el toxinotipo A de *C. perfringens* es el más frecuente siendo el genotipo α el predominante encontrándose presentes también los genotipos α - $\beta 2$ y α -cpe.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baums, C.G., Schotte, U., Amtsberg, G., Goethe, R. 2004. *Vet. Microbiol.* 100, 11-16. • Chamorro, S., Gómez-Conde, M.S., Pérez de Rozas, A.M., y col. 2007. *Animal* 1, 651-659. • Cocchi, M., Agnoletti, F., Bacchin, C., y col. 2007. *Atti Convegno Nazionale ASIC. Forlì*, 26-27th 67-69. • Gurjar, A.A., Hedge, N.V., Love, B.C., Jayarao, B.M. 2008. *Mol. Cel. Prob.* 22: 90-95. • Huybens, N., Houeix, J., Szalo, M., y col. 2008. 9th World Rabbit Congress. Verona, Italy: 500. • Licois, D., Coudert, P., Marlier, D. 2006. *Recent advances in rabbit sciences* (Maertens L., Coudert P. ed). Ed. Ilvo, Merelbeke, Belgium. pp. 163-170. • Marlier, D., Dewrée, R., Licois, D. y col. 2003. 10èmes Journées de la Recherche Cunicole, INRA-ITAVI, Paris, ITAVI éd. Paris: 247-250. • Marlier, D., Dewrée, R., Lassence, C., y col. 2006. *Vet. J.*, 172: 493-50. • Romero, C., Nicodemus, N., García-Rebollar, P., y col. 2009. *Anim. Feed Sci. Tech.* 153, 131-140. • Songer, J.G., 1996. *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 216-234.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por CICYT: CICYT AGL 2008-00627 y por la UPM-CM: CCG07-UPM/AGR-1677.

Tabla 1. Secuencias nucleotídicas de los cebadores empleados para la amplificación por PCR de los genes de las toxinas α , ι , β , $\beta 2$, ϵ y enterotoxina de *Clostridium perfringens* tomadas de Baums et al. (2004) (2) y Gurjar et al. (2008) (1).

Toxina	Gen	Cebadores	Secuencia (5' - 3')	Amplificación (pb)
α	Cpa (1)	CPA 5F	TGCACTATTTTGGAGATATAGATAC	129
		CPA 5R	CTGCTGTGTTTATTTTATACTGTTTC	
ι	lap (2)	CPIF	AAACGCATTAAAGCTCACACC	293
		CPIR	CTGCATAACCTGGAATGCT	
β	Cpb (2)	CPBF	TCCTTTCTTGAGGGAGGATAAA	611
		CPBR	TGAACCTCCTATTTTGTATCCCA	
β -2	Cpb2 (2)	CPB2F	CAAGCAATTGGGGGAGTTTA	200
		CPB2R	GCAGAATCAGGATTTTGACCA	
enterotoxina	Cpe (2)	CPEF	GGGGAACCCTCAGTAGTTTCA	506
		CPER	ACCAGCTGGATTTGAGTTTAAATG	
ϵ	Etx (2)	CPETXF	TGGGAACCTCGATACAAGCA	396
		CPETXR	TTAACTCATCTCCATAACTGCAC	

Tabla 2. Frecuencia de toxinas y toxinotipos detectados en 72 muestras fecales aisladas de conejos con sintomatología de ERE.

Toxinas detectadas	Muestras	Toxinotipos
Ninguna	25/72(34.72%)	
.α	42/72 (58.33%)	A (62.5%)
.α , β-2	1/72 (1.38%)	
.α , cpe	2/72 (2.77%)	
.α , ι	1/72 (1.38%)	E (2.77%)
.α , ι, cpe	1/72 (1.38%)	

GENOTYPING OF CLOSTRIDIUM PERFRINGENS STRAINS IN RABBITS AFFECTED BY EPIZOOTIC ENTEROPATHY

ABSTRACT: Epizootic Rabbit Enteropathy (ERE) has become a major disease affecting intensive European farms. Although, the economic losses due to this disease are considerable, the aetiological agent or agents remain to be identified. *Clostridium perfringens* has been shown to play an important role in the development of ERE. *Clostridium perfringens* is an anaerobic, Gram-positive spore-forming bacterium that produces several pathogenic toxins associated with enteric diseases in domestic animals and humans. In the present work *Clostridium perfringens* toxin genes (α , β , ϵ , ι , β -2 and the enterotoxin) were studied by duplex PCR in DNA extracts from contents of the rabbit gastrointestinal tract and soft faeces to identify toxinotypes associated with the ERE. To this end a total of 72 rabbits displaying ERE symptoms were used. Most of the *Clostridium perfringens* isolated from diseased animals were classified as toxinotype A (62.5% of samples). The genotype α was the most abundant (58.3%) but also α - β 2 and α -cpe genotypes were found. Finally two strains of *Clostridium perfringens* isolated were classified as toxinotype E having the gene encoding the iota toxin. It is concluded that strains of *Clostridium perfringens* isolated from rabbits affected by ERE are mainly classified as toxinotype A.

Keywords: Epizootic Rabbit Enteropathy, *Clostridium perfringens*, genotyping, PCR.

EFEECTO DEL NIVEL DE FIBRA SOLUBLE E INSOLUBLE SOBRE EL PERFIL BACTERIANO EN CECOTROFOS DE CONEJOS EN CRECIMIENTO

Rodríguez-Romero, N¹., Abecia, L²., Fondevila, M.

Instituto Universitario de Investigación en Ciencias Ambientales de Aragón, Depto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza. ¹ Universidad Nacional Experimental del Táchira, San Cristóbal, Venezuela. ² Instituto en Formación de Nutrición Animal, Estación Experimental Zaidín, C.S.I.C., Granada.

mfonde@unizar.es

INTRODUCCIÓN

La fibra es un componente cuantitativamente importante en piensos de conejos y es el principal sustrato energético para la microbiota residente en los tramos finales del aparato digestivo; además, afecta al tiempo de permanencia de la digesta en el ciego, principal compartimento de fermentación, y a sus condiciones ambientales. Como consecuencia, variaciones en el nivel y tipo de fibra en el pienso han sido relacionadas frecuentemente con la densidad y composición de la comunidad microbiana, aunque no se dispone de bibliografía específica en este punto. Los cecotrofos incorporan una considerable concentración de bacterias, habiendo sido propuestos como índice cuantitativo y cualitativo de la población cecal (Micheland et al., 2007; Rodríguez-Romero et al., 2009). El objetivo de este trabajo fue evaluar, a través de los cecotrofos, las características de la población microbiana de conejos en crecimiento alimentados con dietas altas en fibra formuladas con diferentes niveles de fibra soluble e insoluble.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cecotrofos de 24 conejos de raza Neozelandesa, que consumieron dietas formuladas con dos niveles de fibra insoluble (FND; BI: 370 y AI: 460 g/kg) y dos de fibra soluble en detergente neutro (FS; BS: 150 y AS: 180 g/kg) desde el destete a los 28 días (n=6), en instalaciones con ambiente controlado (18-24°C y 12/12 horas de luz/oscuridad). A los 49 días de edad los conejos fueron alojados individualmente y se les colocaron collares cervicales (6 cm d.i y 27 cm d.e) durante 24 horas para evitar la cecotrofia y recoger los cecotrofos (CT), en tres periodos, con dos animales por tratamiento en cada periodo. La proteína bruta (PB) de las dietas y los cecotrofos se analizó por el método Kjeldahl, la FND por el método ANKOM según Van Soest et al. (1991) descontando las cenizas y la FS según Hall et al. (1997).

La biodiversidad bacteriana (IB) se estimó mediante electroforesis en gel de gradiente desnaturizante (DGGE). Se extrajo el ADN de los cecotrofos con el kit QIAamp DNA (QIAGEN, West Sussex, UK) y un fragmento del gen del ARNr 16S se amplificó por PCR usando los cebadores universales de bacterias 5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3' y 5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3' (Muyzer et al. 1993). El programa de la PCR fue: 94°C por 4 min; 32 ciclos de 94°C 1 min, 55°C 1 min, 72°C 1 min, y finalmente 72°C 4 min, en un volumen total de 50 µl de una mezcla con 0.25 µl de cada cebador, 1 µl de dNTPs (10 mM), 3 µl de MgCl₂ (25 mM), 0,50 µl de Taq polimerasa (5u/µl), 10 µl de buffer Green Go Taq (5X) y 1 µl de la extracción de ADN (5 ng/µl). Para verificar el tamaño de los productos de la PCR esperados (200-250 pb), las amplificaciones resultantes se analizaron en gel de TBE agarosa al 1,5% (p/v). Los productos de PCR (16µl) fueron cargados en un gel de poliacrilamida 8% (p/v) con un 40-60% de gradiente desnaturizante. La electroforesis se realizó a un voltaje constante de 80 V y a una temperatura de 60°C durante 16 h. El gel se tiñó con el kit DNA Silver Staining (Amersham Biosciences) y la imagen fue analizada usando el programa Quantity One. El dendrograma se construyó utilizando el algoritmo UPGMA a partir del coeficiente Dice. A partir de la identificación de bandas resultantes, las muestras de ADN se compararon usando una matriz de similitud y se estimó el IB de Shannon modificado (Buckland et al., 2005) a partir de un código binario (0-1) en base a su presencia o ausencia. Las bacterias totales se cuantificaron mediante PCR a tiempo real usando un ABI PRISM[®] 7000 con cebadores para amplificar el gen del ARNr 16S: BAC338F (ACTCCTACGGGAGGCAG) y BAC805R (GACTACCAGGGTATCTAATCC) (Yu et al., 2005). Se añadieron 2 µl del ADN a la reacción de amplificación (25 µl volumen total) que

contenía 0,2 µl de cada cebador y 12,5 µl de Master Mix Power SYBR® Green qPCR de Applied Biosystems. Se usaron tres réplicas de cada muestra de ADN y agua destilada estéril como control negativo. La recta de calibración se estableció con una mezcla de concentración conocida de ADN de cecotrofos diluido desde 10⁻¹ a 10⁻⁵. El programa de la PCR fue: 95°C, 10 min; 40 ciclos a 95°C, 15 segundos y 61°C, 1 min. La eficiencia de la PCR fue de 99.4%.

Los resultados se analizaron por ANOVA según una estructura factorial 2x2, considerando el periodo experimental como bloque, mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (versión 8.2). Las medias de los tratamientos fueron comparadas por la mínima diferencia significativa (P<0.05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La distribución de las comunidades microbianas en los cecotrofos de los conejos de cada tratamiento se muestra en la Figura 1. El dendrograma muestra que las comunidades bacterianas se agruparon en clados diferenciados fundamentalmente por el nivel de fibra soluble. Dentro del nivel bajo de fibra soluble, las comunidades cecales de los cecotrofos se diferenciaron en función de su nivel de fibra insoluble (BIBS vs. AIBS), mientras que éste componente no influyó en la similitud de comunidades bacterianas de los animales que recibieron las dietas altas en fibra soluble (BIAS vs. AIAS). El índice de similitud bacteriana dentro de cada tratamiento aumentó en respuesta al nivel tanto de fibra soluble como insoluble, mostrando una menor dispersión intragrupo cuando los animales recibieron mayores aportes de nutrientes para el ciego (niveles de similitud de 58,5; 69,2; 68,9 y 74,0 % con BIBS, BIAS, AIBS y AIAS, respectivamente).

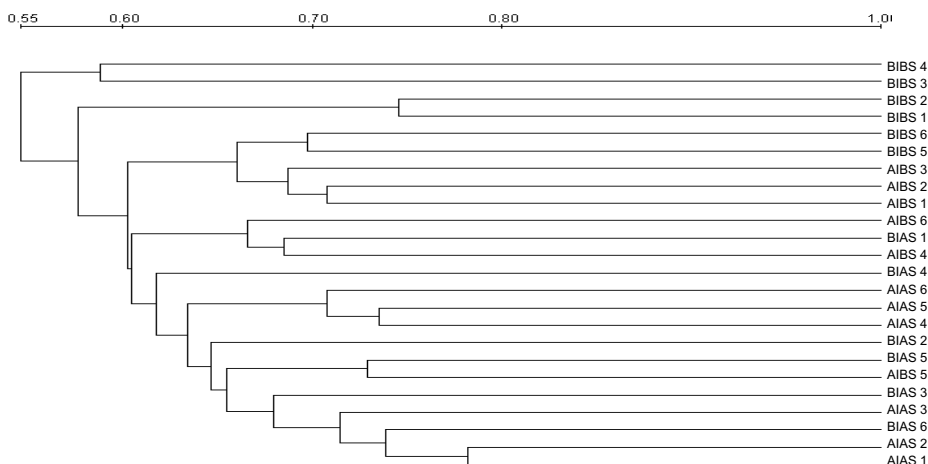


Figura 1. Dendrograma de biodiversidad bacteriana en cecotrofos de conejos en crecimiento alimentados con dos niveles de FND y FS.

La biodiversidad de las comunidades cecales estimada a partir del índice de Shannon (Tabla 1) no fue afectada por el nivel de FND (P>0,05), pero incrementó (P<0,01) con la FS, resultando superiores a los del contenido cecal que les dio origen (3,10; 3,22; 3,17 y 3,27 para BIBS, BIAS, AIBS y AIAS, respectivamente) y a los obtenidos en contenido cecal y cecotrofos por Micheland et al. (2007) estimados mediante CE-SSCP. Por contra, el incremento de la FND de la dieta provocó un descenso (P<0,05) en la cantidad de ADN total obtenido en cecotrofos mediante qPCR, mientras que el nivel de FS no afectó su valor (P>0,05). La concentración de PB en cecotrofos respondió de forma similar, disminuyendo en mayor proporción (4,18 u.p.) por efecto de la FND (P<0,001), y también se incrementó en 1,93 unidades porcentuales (u.p.) por efecto de la fibra soluble (P<0,01).

Tabla 1. Índice de diversidad de Shannon y concentración de ADN bacteriano (ng DNA/mg MS) en cecotrofos de conejos en crecimiento alimentados con dos niveles de FND y FSDN.

	BIBS	BIAS	AIBS	AIAS	DE	Probabilidad	
						FND	FS
Índice de Shannon	3,94 ^b	4,09 ^a	4,00 ^{ab}	4,13 ^a	0,12	NS	**
ng ADN/mg MS	429,96 ^{ab}	526,27 ^a	362,73 ^b	380,48 ^b	102,32	*	NS
PB en cecotrofos (%)	24,11 ^a	25,32 ^a	19,21 ^c	21,87 ^b	0,93	***	**

DE: desviación estándar; ***: P<0,001; **: P<0,01; *: P<0,05; NS: P>0,10

La FS aporta al ciego nutrientes rápidamente fermentables, mientras que la fermentación de la FND está limitada por el rápido ritmo de tránsito; ambos factores justifican una relación entre la concentración bacteriana cecal y la disponibilidad de nutrientes, positiva para el nivel de FS y negativa para el de FND. Por otra parte, la fracción fibrosa cecal, con una alta concentración de las bacterias implicadas en su degradación, es vehiculada mediante las heces duras, por lo que el estudio de la biodiversidad en función del tipo de fibra dietética a partir del muestreo de cecotrofos, que incorporan la población asociada al material de menor tamaño, pudiera estar mediatizada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buckland S. T, Maguran A.E., Green R.E., Fewster R.M. 2005. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 360:243-254
- Hall, M.B., Lewis B.A., Van Soest P.J., Chase L.E., 1997. *J. Sci. Food Agric.* 74, 441-449
- Michelland R, Combes S, Cauquil L, Gidenne T, Monteils V, Fortun-Lamothe L. 12^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole, 2007, France, 77-80
- Muyzer, G., de Waal, E.C. and Uitterlinden, A.G. 1993. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:695-700
- Rodríguez-Romero N., Abecia L., Balcells J., Martínez B., Fondevila M. 2009. II Simposio de Metodologías aplicadas al estudio de la microbiología digestiva, Zaragoza. XIII Jornadas sobre Producción Animal, *AIDA (II)*, 784-786
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597
- Yu Y., Lee C., Kim J., Hwang S. 2005. *Biotechnol. Bioeng.* 89:670-679.

EFFECTS OF SOLUBLE AND INSOLUBLE FIBRE DIETARY LEVELS ON BACTERIAL PROFILE IN CAECOTROPHES FROM GROWING RABBITS

ABSTRACT: The effect of neutral detergent fibre (NDF) and soluble fibre (NDSF) on bacterial diversity of caecotrophes from growing rabbits was studied. Four diets were formulated according to two levels of NDF (BI: 370 and AI: 460) and two levels of NDSF (BS: 150 and AS: 180) in a 2x2 factorial structure (n=6). Caecotrophes from 24 rabbits (49 days old) were obtained and bacterial biodiversity (IB) and total bacterial DNA concentration were determined by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and real time PCR. Bacterial communities clustered according to their NDSF level, and, within BS, were separated by the NDF level. Shannon Index was not affected by the level of NDF (P>0.05), but increased (P<0.01) with the NDSF from 3.97 to 4.11. Total DNA decreased (P<0.05) with NDF, and the crude protein content of caecotrophes decreased with NDF (P<0.001) and increased with SF (P<0.01). Results indicate that the level of NDSF positively affects concentration and diversity of the caecal microbiota.

Keywords: rabbit, caecotrophes, bacterial biodiversity, bacterial concentration.

BACTERIAS TOTALES COMO PARTE DEL N ENDÓGENO EN RATAS ALIMENTADAS CON VIGNA UNGUICULATA

Fernández-Figares1, I., Ruiz1, R., Kapravelou2, G., Porres2, J.M., Rubio1, L.A.

1 Departamento de Fisiología y Bioquímica de la Nutrición Animal (EEZ, CSIC). Camino del Jueves s/n Armilla 18100. Granada.

2 Departamento de Fisiología. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Granada.

ifigares@eez.csic.es

INTRODUCCIÓN

Las legumbres son fuentes importantes de nutrientes esenciales en la dieta y tienen un gran potencial en nutrición animal y humana aunque contienen compuestos antinutritivos que pueden interferir con su valor nutricional. Vigna unguiculata (Vigna) es una legumbre muy consumida en Asia, Centro y Sudamérica y África (Nwokolo y Smartt, 1996). Tradicionalmente, las legumbres se procesan para mejorar su palatabilidad y destruir compuestos antinutritivos siendo el remojo, el cocinado, la germinación o la fermentación los métodos más ampliamente usados y efectivos (Urbano et al., 2007). El uso de estos métodos de procesado de las legumbres podría alterar la excreción endógena de los animales alimentados con las mismas. No se conocen bien los efectos de las diferentes condiciones de procesado de los alimentos en la excreción endógena o la población bacteriana del intestino grueso. El objetivo de este trabajo fue estudiar si procesos tecnológicos sencillos como la fermentación natural y el calentamiento afectan el número de bacterias a nivel fecal en ratas alimentadas con dietas cuya única fuente de proteína fue la Vigna.

MATERIAL Y MÉTODOS

Cincuenta ratas albinas Wistar de 3 semanas de edad, recién destetadas, se distribuyeron en 5 grupos experimentales: Caseína o control (CM), Vigna cruda (V), Vigna fermentada naturalmente (FV), Vigna fermentada naturalmente y autoclavada (FVA) y proteinopriva (PP) para determinar las pérdidas fecales endógenas, y se mantuvieron en jaulas metabólicas diseñadas para recoger separadamente heces y orina en un laboratorio termorregulado con ciclos de 12 h de luz/oscuridad. Cada grupo consumió ad libitum una de las dietas experimentales durante 10 días excepto el grupo consumía la dieta PP que la consumió durante 6 días. Tras un periodo de adaptación de 3 días (2 para PP) se realizó una recogida total de excreta durante 7 días (4 para PP) conservándose las heces a -20°C hasta su liofilización. Las dietas, isoproteicas (12% PB, excepto la PP) e isoenergéticas, se formularon para cubrir las necesidades de ratas en crecimiento (NRC, 1995). Para ajustar la cantidad y el tipo de fibra dietaria a los de la Vigna (Martín-Cabrejas et al., 2004) la dieta CM se suplementó con las siguientes fuentes de fibra: celulosa, agar-agar, xilano de centeno, almidón de patata y lignina como fuentes de fibra insoluble (30,1, 31,3, 5,1, 18,5, y 15,0% del total de fibra insoluble, respectivamente) y pectina de cítrico como fibra soluble. Las semillas de Vigna se lavaron con agua destilada, se secaron en estufa y se molieron previamente a la preparación de las dietas. Fermentación (dieta V): La harina de Vigna cruda se suspendió en agua estéril permitiéndose la fermentación con los microorganismos presentes de forma natural en la semilla (Doblado et al., 2003) a 37°C durante 48h sin aireación en un fermentador con agitación y tras la fermentación se liofilizó la harina. Tratamiento térmico de la harina fermentada: La harina V se esterilizó con calor seco durante 20 min a 121°C. Análisis estadístico: Los datos fueron sometidos a un ANOVA de una vía y las diferencias entre medias se estimaron mediante el test de Duncan utilizando el paquete estadístico StatGraphics. La extracción y purificación de ADN se llevó a cabo a partir de heces liofilizadas y molidas utilizando el kit comercial QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Cat. no 51504) (Ruiz y Rubio 2009): La cuantificación de bacterias totales se llevó a cabo mediante PCR cuantitativa y se utilizaron los oligonucleótidos F-tot (directo) 5'-GCAGGCCTAACACATGCAAGTC-3' y R-tot (reverso) 5'-CTGCTGCCTCCCGTAGGAGT-3' (Castillo et al., 2006). Las curvas estándar se construyeron utilizando el plásmido resultante de clonar el producto de amplificación por PCR del gen rRNA 16S de *Escherichia coli* en el vector pCRTM4-TOPOTM. La función que describe la relación entre C_t (ciclo umbral) y el logaritmo del número de copias (x) fue $C_t = 1,741 - 3,578 x$; $R^2 = 0,998$. La PCR cuantitativa

se llevó a cabo utilizando la mezcla FastStart Universal SYBR Green (ROX). Las condiciones de reacción fueron 95°C 10 minutos, 40 ciclos de 95°C 15 segundos y 60°C 1 minuto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ratas alimentadas con dietas basadas en harina de Vigna tuvieron un número mayor de bacterias a nivel fecal que las dietas de caseína (Fig. 1). La fermentación o el calentamiento no produjeron cambios en el recuento de bacterias totales a nivel fecal. Las diferencias en el contenido en caseína (dietas PP y CM) no dieron lugar a diferencias significativas en el recuento de bacterias totales en heces. Las bacterias fecales son una fracción de las pérdidas endógenas fecales, no distinguiéndose normalmente qué parte del endógeno corresponde a microflora. Marcando la proteína endógena con ¹⁵N se puso de manifiesto que existe una contribución del N bacteriano (con menor enriquecimiento isotópico relativo) a la digesta (Lien et al., 1997). Además, los microorganismos son ricos en proteína (Neidhardt et al., 1990), y no sólo pueden utilizar los aminoácidos no absorbidos sino que pueden sintetizarlos de novo (Fuller y Reeds 1998). Por estas razones, la determinación de la contribución de la microflora a la digesta total es de interés en nutrición animal. Las pérdidas endógenas pueden estimarse suministrando una dieta proteinopriva a un grupo de animales asumiendo que el nitrógeno determinado a nivel ileal o fecal corresponde a las pérdidas endógenas de los animales en experimentación que toman las dietas problema en paralelo. Esta aproximación no está exenta de inconvenientes y aunque se han propuesto alternativas para mejorarla (Fuller y Reeds, 1998), sigue siendo la técnica más empleada. El contenido en ácido diaminopimélico (DAPA), presente en la pared celular de bacterias, o el contenido en D-Ala se han utilizado como marcadores de proteína de origen bacteriano (Masson et al., 1991, Schoenhusen et al., 2008). Rubio (2003) estimó por medio del DAPA que el N bacteriano constituye entre el 50 y el 80 % del N total en heces de ratas alimentadas con legumbres. Sin embargo, el uso de técnicas moleculares ha revolucionado el estudio de la microflora digestiva permitiendo tanto la cuantificación como la tipificación de la misma. Así, en el presente trabajo se ha realizado el recuento de bacterias totales en heces de ratas alimentadas con diferentes fuentes de N en la ración.

En conclusión, los animales alimentados con caseína tuvieron mucho menor contenido bacteriano que los alimentados con dietas basadas en Vigna. Por tanto, como se ha sugerido anteriormente, una parte muy significativa del N endógeno fecal en ratas alimentadas con leguminosas pertenece a la fracción bacteriana, lo que cuestiona el uso de raciones proteinoprivas para estimar la excreción endógena de N. La fermentación y el tratamiento térmico de la harina de Vigna no tuvieron ningún efecto sobre el contenido total de bacterias a nivel fecal. La cuantificación de los grupos bacterianos predominantes en la flora fecal podría dar información valiosa sobre el posible efecto prebiótico de la Vigna.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Castillo, M., Martín-Orúe, S.M., Manzanilla, E.G., Badiola, I., Martín, M. & Gasa, J. 2006. *Vet Microb.* 114:165-70. • Doblado, R., Frias, J., Muñoz, R. & Vidal-Valverde C. 2003. *J Food Prot.* 66:2313-20. • Fuller, M.F., & Reeds, P.J. 1998. *Annu Rev Nutr.* 18:385-411. • Leser, T.D., Amenuvor, J.Z., Jensen, T.K., Lindecrona, R.H., Boye, M. & Moller, K. 2002. *Appl Environ Microbiol.* 68, 673-90. • Lien, K.A., Sauer, W.C. & Dugan ME. 1997. *J Anim Sci.* 75:159-69. • Martín-Cabrejas, M.A. Sanfiz, B., Vidal, A., Mollá, E., Esteban R. & López-Andréu F.J. 2004. *J Agric Food Chem.* 52:261-6. • Masson, H.A., Denholm, A.M. & Ling J.R. 1991. *Appl. Environ. Microb.* 57:1714-20. • National Research Council. 1995. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, 4th revised ed., Washington, DC: National Academy Press. • Neidhardt, F.C., Ingraham, J.L. & Schaechter M. 1990. *Physiology of the Bacterial Cell Wall: A Molecular Approach*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer. • Rubio, L.A. 2003. *Br J Nutr.* 90:301-309. • Ruiz, R. & Rubio, L.A. 2009. *J Sci Food Agric.* 89:723-7. • Nwokolo, E. & Smartt, J. 1996. *Food and Feed from Legumes and Oilseeds*. Pags 229-240. Chapman & Hall. • Schoenhusen, U., Voigt, J., Hennig, U., Kuhla, S., Zitnan, R. & Souffrant W.-B. 2008. *Vet Med.* 53:184-92 • Urbano, G., Porres, J.M Frias, J. & Vidal-Valverde, C. 2007. Lentil nutritional value. En: *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*. Vol. 1, pgs 47-94, Springer.

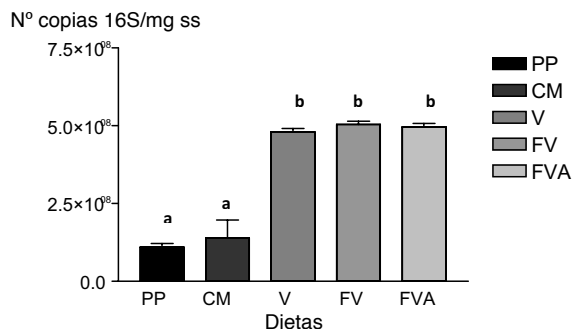
Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado en parte por los proyectos AGL2009-8916, AGL2007-62044 y PET2008-0311.

TOTAL BACTERIA AS PART OF FECAL ENDOGENOUS LOSSES OF N IN RATS FED WITH VIGNA UNGUICULATA

ABSTRACT: Legumes are important sources of nutrients in animal and human nutrition although they have antinutritional factors as well. Heat treatment and fermentation are common processes used to improve palatability and inactivate antinutritional factors of legumes. The intestinal microbiota is a fraction of endogenous losses very relevant in animal nutrition studies. The aim of this study was to ascertain if heat and germination of *Vigna sinensis* affect the number of bacteria of faeces in rats. Wistar rats (n=50) kept in metabolism cages were fed ad libitum isoenergetic diets containing Vigna flour (raw, fermented or fermented and heated), casein or a protein free diet. After 4 days of adaptation separate faeces and urine collection was performed for 6 days. Total count of bacteria in freeze-dried faeces was determined by real-time PCR. Vigna rats had significantly higher total faecal bacteria counts than casein and protein free rats. Fermentation or heat treatment did not alter faecal bacterial counts. In conclusion, the use of a protein free diet to estimate endogenous losses, underestimates the bacteria fraction of rats fed *Vigna unguiculata*.

Keywords : bacteria, endogenous losses, rat, *Vigna unguiculata*

Figura 1 . Recuento de bacterias fecales totales (n° copias 16S/mg materia seca), en ratas alimentadas con dietas normoproteicas cuyas fuentes de proteína eran caseína (CM), harina de Vigna cruda (V), fermentada (FV) o fermentada y autoclavada (FVA) o una dieta hipoproteica de caseína (PP).



LISTA DE PARTICIPANTES A LAS XIV JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL (Zaragoza, Mayo 2011), inscritos a fecha de 26 de Abril de 2011

APPELLIDOS Y NOMBRE	EMPRESA	DIRECCIÓN	CP - CIUDAD	E-MAIL
1 Abdelilah Hassan Ahmed	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure, 191	25198 - LLEIDA	a.abdelilah@prodan.udl.cat
2 Abecia Allende Leticia	CSIC - Estación Experimental del Zaidín	Profesor Albareda, 1	18008 - GRANADA	leticia.abecia@eez.csic.es
3 Abecia Martínez Alfonso	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	alf@unizar.es
4 Abuelo Sebío Ángel	Universidad de Santiago de Compostela. Fac. Veterinaria	Campus Universitario s/n	27002 - LUGO	angel.abuelo@rai.usc.es
5 Adell Sales Elisa	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	eladsa@etsia.upv.es
6 Alonso Pires Sância	ESA-CIMO, Campus Santa Apolonia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANCA (Portugal)	spires@pbp.pt
7 AH Saidi Adel	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	adelaid@gmail.com
8 Alabart Álvarez José Luis	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	jalabart@aragon.es
9 Alberti Lasalle Pere	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	p Alberti@aragon.es
10 Alenda Jiménez Rafael	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	rafael.alenda@upm.es
11 Almería de la Merced Sonia	CRSA	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Sonia.Almeria@uab.cat
12 Alonso Martín Verónica	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	verolanz@unizar.es
13 Álvarez Rodríguez Javier	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	j Alvarez@prodan.udl.cat
14 Amador Arranz Carmen	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	amador.carmen@inia.es
15 Amazan Daniel	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	anaray@vet.upm.es
16 Amenabar Mª Eugenia	Neiker-Tecnalia, Arkaute	Apdo. 46	01080 - VITORIA	amenabar@neiker.net
17 Amills Eras Marcel	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Marcel.Amills@uab.cat
18 Amorena Zabalza Beatriz	Universidad Pública de Navarra- Instituto de Agrobiotecnología	Ctra. Multiva Baja	31192 - MUTILVA BAJA	bamorena@unavarra.es
19 Andrés Lorente Sonia	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	sonia.andres@eae.csic.es
20 Aragonés Gómez Ignacio	IMASDE AGROALIMENTARIA, S.L.	C/ Napoles, 3	28224 - POZUELO DE ALARCÓN	iaragonés@e-imasde.com
21 Araújo José Pedro	ESA - Instituto Politécnico de Viana do Castelo	Refóios	4990-706 - PONTE DE LIMA (Pt)	pedro@esa.ipvv.pt
22 Argente Carrasco María José	Universidad Miguel Hernández de Elche	Ctra. de Beniel Km 9.2	03312 - ORIHUELA	mj.argente@umh.es
23 Arias Martínez Cristina	Centro Regional Selección y Reproducción Animal (CERSYRA)	Avda. Vino, 10	13300 - VALDEPEÑAS	cariasm@rcam.es
24 Arranz Santos Juan José	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	jjarranz@unileon.es
25 Asenjo Martín Begoña	Universidad de Valladolid. EUIAgrias de Soria	Campus Duques de Soria, s/n	42004 - SORIA	basenjo@agro.uva.es
26 Balcells Terés Joaquim	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	balcells@prodan.udl.cat
27 Barahona Marco Marta	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	martabm@unizar.es
28 Barros González Vladimir	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	vladimirbarros2009@yahoo.com
29 Bartolome Rodríguez Daniel José	Instituto Tecnológico Agrario	Paseo de Canalejas, 77 2ªA	37001 - SALAMANCA	ita-barrodda@itacyl.es
30 Basella Izquierdo Manuel	Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV	Camino de Vera s/n	46022 - VALENCIA	mbasella@dca.upv.es
31 Belanche Gracia Alejandro	IBERS, Aberystwyth University	Ground Floor Flat, SY23 2NF	ABERYSTWYTH (UK)	alb@aber.ac.uk
32 Belanguier Ferrando Alvaro	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	a.belanguier@eae.csic.es
33 Beltrán de Heredia Ignacia	Neiker-Tecnalia, Arkaute	Apdo. 46	01080 - VITORIA	ibeltran@neiker.net
34 Benítez Yáñez Rita María	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	rmbenitez@inia.es
35 Bernués Jal Alberto	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	abernués@aragon.es
36 Blanch Sabornit Marta	Novus Spain	Ctra. T-721, Km 6.8	43120 - CONSTANTÍ	marta.blanch@novusint.com
37 Blanco Alibés Mireia	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	mbianco@aragon.es
38 Blas Ferrer Enrique	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	ebias@dca.upv.es
39 Blasco Mateu Agustín	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	ablasco@dca.upv.es
40 Blasco Pérez-Aramendia Isabel	ASAPI	Camino Miraflores, s/n	50007 - ZARAGOZA	iblasco@hotmail.com
41 Bodas Rodríguez Raul	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	raul.bodas@eae.csic.es
42 Bonastre Oliete Mayorga	Centro Regional Selección y Reproducción Animal (CERSYRA)	Avda. Vino, 10	13300 - VALDEPEÑAS	boliete@rcam.es
43 Borda Cassas Elisabet	BIOPERICA	Ctra. Nacional II, km 680.6	08389 - PALA-FOLLS (Barcelona)	eborda@bioperica.com
44 Borobia Frías Marta	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	mborobia@unizar.es

45	Bueno Fernández Mónica	Universidad de Zaragoza. Facultad de Ciencias	C/ Pedro Cerbuna, 12	50009 - ZARAGOZA	mobueno@unizar.es
46	Cargas Paz William	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	williamobur@gmail.com
47	Caballero de la Calle José Ramón	UCLM	C/ Calatrava, 5	13071 - CIUDAD REAL	JoseRamon.Caballero@uclm.es
48	Cáceres Nebreda Angelina	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera	Autovía A-5, Km 372	08187 - GUADAJIRA	angelina.caceres@juntaextremadura.net
49	Calavia Benito Rebecca	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	rcalavia@aragon.es
50	Calsamiglia Sergio	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	sergio.calsamiglia@uab.cat
51	Calvete Margolles Carlos	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	ccalvete@aragon.es
52	Calvo Lacosta Jorge Hugo	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	jhcavo@aragon.es
53	Campo Arribas Mari Mar	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	marimar@unizar.es
54	Campo Chavarri José Luis	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	jicampo@inia.es
55	Canovas Tienda Ángeles	IRTA	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	angelia.canovas@irta.cat
56	Cañales Martínez Vicente	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	canaque@inia.es
57	Carabaño Rosa	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	rosa.caraban@upm.es
58	Casado Gascón Adriana	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	adriana@unizar.es
59	Casas Usón	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	casasus@aragon.es
60	Casasús Pueyo Isabel	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	joaquim.casellas@uab.cat
61	Casellas Vidal Joaquim	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	joaquim.casellas@uab.cat
62	Caspío Martínez Alicia	Universidad Autónoma de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEÓN	lcm85@hotmail.com
63	Castells Domingo Lorenc	IRTA	Mas d'Arbó, s/n	08140 - BARCELONA	lorenc.castells@irta.cat
64	Catalá María Gracia	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	cataia.mg@gmail.com
65	Cavini Sara	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	cavinisara@yahoo.it
66	Cebrián Pérez José Antonio	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	pcebrinan@unizar.es
67	Cherití Russi Carlos	BIOIBERICA	Ctra. Nacional II, km 680.6	08389 - PALAFOLLS (Barcelona)	ccheriti@bioiberica.com
68	Chiriz Zadi	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	chiziz@posgrado.upv.es
69	Congost Luengo Salvador	Centro de Transferencia Agroalimentaria (CTA)	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	scongost@aragon.es
70	Cordero González Gustavo	PigCHAMP Pro Europa S.A. - Pol. Ind. Hontoria	Gremios Segovianos, 13	40195 - SEGOVIA	pigchamp@pigchamp-pro.com
71	Cordova Bladimir	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	bladimir_cordova@hotmail.com
72	Corominas Gaibany Jordi	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	jordi.corominas@uab.es
73	Crespo Montero Fco. Javier	INTERQUIM, S.A.	Avda. Raguil, 60. 1º Piso	08173 - SANT CUGAT DEL VALLES	jrcrespo-equim@terrergroup.com
74	Curbelo Quintana Palmira	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera	Avda. Maria Auxiliadora, nº 49 3ºC	06011 - BADAJOZ	palmi1977@hotmail.com
75	Davin Cardona Roger	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	roger.davin@gmail.com
76	Daza Andradá Argimiro	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	argimiro.daza@upm.es
77	D'Cruz Nancy Teresa	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	ntdcruz@ext.aragon.es
78	De Ondiz Altor	Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria	Campus de Espinardo	30100 - ESPINARDO	altor.de@um.es
79	Dieste Pérez Lucía	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	ldestep@aragon.es
80	El Nagar Ayman	Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	ayelina@posgrado.upv.es
81	Escubano Sánchez Alfredo José	Facultad de Veterinaria de Cáceres	Avda. de la Universidad, s/n	10071 - CACERES	ajesccc@gmail.com
82	Esquivelzeta Rabell Cecilia	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	cesquivelzeta@hotmail.com
83	Estany Ila Joan	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	lestany@prodan.udl.cat
84	Estrada Korta Olaia	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	oestrada@aragon.es
85	Fábregas i Comadran Xavier	C/ Vidal i Graners, 28 1r 2º	Avda. Montañana, 930	08173 - SANT CUGAT DEL VALLES	xfabregues@hotmail.com
86	Fernández Avila Ana Isabel	SGIT-INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	avila@inia.es
87	Fernández Martín Jesús	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	jm@inia.es
88	Fernández Martínez Carlos	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	cifermandez@dca.upv.es
89	Fernández-Figares Ibañez Ignacio	CSIC - Estación Experimental del Zaidín	Profesor Albarced, 1	18008 - GRANADA	ifigares@eez.csic.es
90	Ferrando Lebraud Ainhoa	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	ainhoa.ferrando@uab.cat
91	Ferret Quesada Alfred	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Alfred.Ferret@uab.es

92	Figueras Hamed Jaime	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	figejaim@uab.cat
93	Fina Pla Marta	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	maria.fina@uab.cat
94	Folch Albarreda Josep Maria	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	JosepMaria.Folch@uab.cat
95	Folch Pera José	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	folch@aragon.es
96	Foskoles Andreas	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	andreas.foskoles@uab.cat
97	Fraile Sauce Lorenzo José	Universidad de Lleida (Udl.)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	lorenzo.fraile@prodan.udl.cat
98	Freitas Alves M ^a Estefanía	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	esalves@inia.es
99	Fruitos Fernández Pilar de	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	p.fruitos@eeae.csic.es
100	Gadea Mateos Joaquín	Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria	Campus Espinardo	30100 - ESPINARDO	lgadea@um.es
101	Gallardo García Beatriz	ETSIIAA - Universidad de Valladolid. Campus La Yutera	Avda. Madrid, s/n	34071 - BALENCIA	beatriz.gallardo.garcia@uva.es
102	García Davila Sara	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	sgdavia@inia.es
103	García Gámez Elsa	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	egagam@unileon.es
104	García Gil María	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	ggil@inia.es
105	García Pardo María de la Luz	Universidad Miguel Hernández de Elche	Ctra. de Benilú Km 3.2	03312 - ORIHUELA	mariluz.garcia@umh.es
106	García Rodríguez Aser	Nelker-Tecnalia, Arkaute	Apdo. 46	01080 - VITORIA	aserg@nelker.net
107	García Torres Susana	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdequera	Autovía A-5, Km 372	06187 - GUADAJIRA	susana.garcia@iuntaextremadura.net
108	Garrido González Victoria	Universidad Pública de Navarra-Instituto de Agrobiotecnología	Ctra. Multiña Baja	31192 - MUTILVA BAJA	victoria.garrido@unavarra.es
109	Gasa Gasó Josep	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Josep.gasa@uab.es
110	Gómez Blasco Ernesto Ángel	CITA - IWA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	gomez_ern@gyva.es
111	Gómez Cabrera Augusto	Universidad de Córdoba	Campus de Rabanales CN IV, km 396	14014 - CORDOBA	patgocaa@uco.es
112	Gómez Fernández José	Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León	Ctra. Riaza a Toro, s/n	40353 - HONTALBILLA	gomezferj@iactyl.es
113	Gómez Romano Fernando	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	gomez.fernando@inia.es
114	Gómez Urviola Nilón César	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	gomezurviola@hotmail.com
115	González Cano Javier	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	javier.gonzalez@upm.es
116	González Gemma	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	gemma.gonzalez@uab.cat
117	González Mateos Gonzalo	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	gonzalo.gmateos@upm.es
118	González Recio Oscar	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	gonzalez.oscar@inia.es
119	González Rodríguez Aldemar	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	aldemarang09@yahoo.es
120	González Vega Luis Mijail	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	luismijail@hotmail.es
121	González-Peña Fundora Dianelys	CITA - IWA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	dgp79@gmail.com
122	Guerra Ordaz Alexei Armando	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	alexearmando@gmail.com
123	Guerra Rivas Cristina M ^a	ETSIIAA - Universidad de Valladolid. Campus La Yutera	Avda. Madrid, s/n	34071 - PALENCIA	crispitity@hotmail.com
124	Guerrero Barrado Ana	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	aguerr@unizar.es
125	Gutiérrez García Juan Pablo	Universidad Complutense de Madrid (UCM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	gutgar@vet.ucm.es
126	Gutiérrez Toral Pablo	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	pg.toral@eeae.csic.es
127	Hamzaoui Soufiane	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	sofianita2000@yahoo.fr
128	Hernáiz Ferro Brigida	Universidad de Lleida (Udl.)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	brigidahernida@yahoo.es
129	Hernández Matamoros Alejandro	Universidad de Extremadura. Escuela Ingenierías Agrarias	Avda. Adolfo Suárez, s/n	06007 - BADAJOZ	matena@unex.es
130	Hernández Pérez Pilar	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	phernan@cc.uv.es
131	Hervás Angulo Gonzalo	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	hervas@eeae.csic.es
132	Horcada Ibañez Alberto	Universidad de Sevilla	Ctra. de Utrera, km 1	41013 - SEVILLA	albertohi@us.es
133	Humada Macho María José	Centro de Investigación y Formación Agrarias	C/ Héroes 2 de Mayo, 27	39600 - MURIEDAS	mariajhumada@hotmail.com
134	Ibañez Escriche Noelia	IRTA	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	noelia.ibanez@irta.es
135	Ibañez Sanchis Carla	Universidad CEU Cardenal Herrera	Avda. Seminario, s/n	46113 - MONCADA	carla.ibanez@uch.ceu.es
136	Insausti Barrenechea Kizkitza	Universidad Pública de Navarra (UPN)	Campus de Arosadía, s/n	31006 - PAMPLONA	kizkitza.insausti@unavarra.es
137	Jiménez Montero José Antonio	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	jjimmonero@gmail.com
138	Jiménez Sobrino Lorena	Centro Regional Selección y Reproducción Animal (CERSYRA)	Avda. del Vino, 10	13300 - VALDEPEÑAS	lorenajimenez15@gmail.com

139	Joy Torrens Margalida	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	mjp@aragon.es
140	Juste Aguilera Verónica	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	vjuasa@upvnet.upv.es
141	Lachica López Manuel	CSIC - Dpto. Nutrición Animal, EEZ	Camino del Jueves, s/n	18100 - ARMILLA	manuel.lachica@eez.csic.es
142	Lahoz Crespo Belen	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	blahoz@aragon.es
143	Latorre Goriz Maria Angeles	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	malatorr@unizar.es
144	Lavin González Mª Paz	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	paz.lavin@eez.csic.es
145	Lemos Teixeira Dayane	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	teixeira@unizar.es
146	Lima Cerqueira Joaquim	ESA - Instituto Politécnico de Viana do Castelo	Refúgios	4990-706 - PONTE DE LIMA (Pt)	cerqueira@esa.ipv.pt
147	Lisite Ruiz María Guiomar	University of Cambridge, Department of Veterinary Medicine	Madrigley Road	CAMBRIDGE, CB3 0ES (UK)	gl318@cam.ac.uk
148	Lizabdo Pires	IFITA, Centro Mas de Bover	Ctra. Reus-El Morell, Km 3,8	43120 - CONSTANTI	rosilizarado@irra.es
149	Luna Bordas Lola	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	malobor@upvnet.upv.es
150	López Gajardo Adoración	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdeesequera	C/ Libertad, nº 53	06810 - CALAMONTE	dolaga19@hotmail.com
151	López Lujan Mª Carmen	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	mloulo@upvnet.upv.es
152	López Parra Mª de la Montaña	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdeesequera	Autovía A-5, Km 972	06187 - GUADAJIRA	montana.lopez@juntaextremadura.net
153	Lorenzo Rodríguez José Manuel	Centro Tecnológico de la Carne	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	jmlorenzo@cetecaca.net
154	Luna Valiente Carolina	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	caroluna@unizar.es
155	Maffei Marius	University of Agronomical Sciences, Animal Sciences Faculty		BUCHAREST (Romania)	mariusmaffei@yahoo.com
156	Manso Alonso Teresa	ETSIAA- Universidad de Valladolid, Campus La Yutera	Avda. Madrid, s/n	34071 - PALENCIA	tmanso@agro.uva.es
157	Manso Lorenzo Alberto	PigCHAMP Pro Europa S.A. - Pol. Ind. Hontoria	Gremios Segovianos, 13	40195 - SEGOVIA	pigchamp@pigchamp-pro.com
158	Maria Levrimo Guisvao	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	levrimo@unizar.es
159	Maroto Molina Francisco	Universidad de Córdoba	CN IV, km 396	14014 - CORDOBA	g02mamof@uco.es
160	Martí Rodríguez Sonia	IFITA	Torre Marimón C-59, km 12,1	08140 - CALDES DE MONTBUI	sonia.marti@irra.cat
161	Martín García A. Ignacio	CSIC - Estación Experimental del Zaidin	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	ignacio.martin@eez.csic.es
162	Martín Oribe Susana	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	susana.martin@uab.cat
163	Martínez Fernández Gonzalo	CSIC - Estación Experimental del Zaidin	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	gonzalo.martinez@eez.csic.es
164	Martínez Pastor Felipe	Universidad de León, INDEGSAL	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	felipe.martinez@unileon.es
165	Martínez Royo Albert	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	amartinezroyo@aragon.es
166	Martínez Talaván Amparo	CITA - IVA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	martinez_ampa1@gva.es
167	Martínez Valladares María	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	mmarva@unileon.es
168	Martínez Vallespín Beatriz	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	beamanva@upvnet.upv.es
169	Mateos José Ángel	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	jamateos@unizar.es
170	Mele Carola	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Carola.Mele@uab.cat
171	Mendizabal Alzuru José Antonio	Universidad Pública de Navarra (UPN)	Campus de Arrosadia, s/n	31006 - PAMPLONA	jamendi@unavarra.es
172	Mendoza Magán Noelia	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	noe_magan@yahoo.es
173	Mercado de la Peña Eduardo de	Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León	Ctra. Riiza a Toro, s/n	40353 - HONTALBILLA	ita-merped@itacyl.es
174	Migueléiz Riádigos Silvia	Universidad de Santiago de Compostela, Fac.Veterinaria	Campus Universitario s/n	27002 - LUGO	silvabluewavy@hotmail.com
175	Minguez Balaguer Carlos	Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	carminba@etsia.upv.es
176	Milijana Nerin Olga	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	ornijana@unizar.es
177	Mocó Cenvera Eva	CITA - IVA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	moce_eva@gva.es
178	Molina Alcáide Eduarda	CSIC - Estación Experimental del Zaidin	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	molina@eez.csic.es
179	Molina Flores Baldomero	Food Agriculture Organization	Via Leopardi, 17. INT.C4	00185 - ROMA (Italia)	baldomero.molinaflores@fao.org
180	Molino Gahete Francisco	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	fmolino@aragon.es
181	Mondéjar Corbalán Irene	Universidad de Murcia, Facultad de Veterinaria	Campus Espinardo	30100 - ESPINARDO	irenemc@um.es
182	Monge Aisa Paula	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	paulam@unizar.es
183	Montesegudo Ibañez Luis Vicente	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	monteseg@unizar.es
184	Montoro Morcillo Carlos	IFITA	C/ Levant, 51	17469 - VILAMALLA	carlos.montoro@irra.cat
185	Morales Peñacoba Joaquín	PigCHAMP Pro Europa S.A. - Pol. Ind. Hontoria	Gremios Segovianos, 13	40195 - SEGOVIA	pigchamp@pigchamp-pro.com

186	Morán Lobato Lara	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	laramoran@eae.csic.es
187	Moreno Sánchez Natalia	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	natalia@inia.es
188	Muela Garrido Erica	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	ericamole@hotmail.com
189	Muño Blanco María Teresa	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	muino@unizar.es
190	Muño Otero Rodrigo	URBZ O SALETTE III, Nº 44.	San Miguel de Guillar	27150 - OUTEIRO DE REI	rodrigomuino@colvet.es
191	Muns Ramon	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	ramon.muns@uab.cat
192	Muñoz Álvaro Pilar	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	pinmunoz@aragon.es
193	Muñoz Forcada Rebeca	Universidad de Lleida (Udl)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	Rebeca@prodan.udl.cat
194	Muñoz María	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	mariamm@inia.es
195	Muñoz Regalado Belén	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdeesequera	Autovia A-5, Km 372	06187 - GUADAJIRA	belen.munoz@unlaextremaura.net
196	Nicodemus Martín Nuria	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	nuria.nicodemus@upm.es
197	Olaizola Tolosana Ana	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	olaizola@unizar.es
198	Oliveira António	ESA-CIMO. Campus Santa Apolónia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANÇA (Portugal)	teixeira@ipb.pt
199	Olleita Castañer José Luis	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	olleita@unizar.es
200	Óvilo Martín Cristina	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	ovilo@inia.es
201	Palacián Arizón Inmaculada	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	ipalacin@unizar.es
202	Palacios Ricoserza Carlos	Universidad de Salamanca	Avda. Filiverto Villalobos 119	37007 - SALAMANCA	carlospalacios@colvet.es
203	Panea Doblado Begona	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	bpaneas@aragon.es
204	Parra Testal Vita	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdeesequera	Autovia A-5, Km 372	06187 - GUADAJIRA	vitaparra@hotmail.com
205	Pascual Amorós Mª Desamparados	CITA - IVIA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	pascual_mde@iva.es
206	Paulos Kátia	ESA-CIMO. Campus Santa Apolónia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANÇA (Portugal)	teixeira@ipb.pt
207	Peña y Lillo Gadán Pamela	Universidad de Lleida (Udl)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	pamelamedvet@gmail.com
208	Peñeira Eitelvina	ESA-CIMO. Campus Santa Apolónia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANÇA (Portugal)	teixeira@ipb.pt
209	Pérez Montarelo Dafne	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	dafne.perez@inia.es
210	Piñero Fraga Pablo	Universidad de Santiago de Compostela. Fac. Veterinaria	Campus Universitario s/n	27002 - LUGO	papira@terra.es
211	Plaixats Boixadera Josefina	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	josefina.plaixats@uab.cat
212	Prieto Benavides Nuria	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	nuria.prieto@eae.csic.es
213	Pun Garcia Andrés	Universidad Complutense de Madrid (UCM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	apun@vet.ucm.es
214	Quintero Moreno Armando	Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias	Ave Goajira. Nucleo Agrop., 4º, 4-11	Venezuela	armando.quintero@fcv.luz.edu.ve
215	Ragab Mohamed	Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	moramo@upvet.upv.es
216	Ramayo Caidas Yulixis	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	yulixis.ramayo@uab.es
217	Ramos Morales Eva	CSIC - Estación Experimental del Zaidin	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	eva.morales@eez.csic.es
218	Ramos Onsins Sebastián E.	Centre de Recerca en Agricultura Genómica	Campus de la UAB. Edificio CRAG	08193 - BELLATERRA	sebastian.ramos@uab.es
219	Ranilla Garcia María José	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	mjrang@unileon.es
220	Reixach Sadurni Josep	Selección Batallé S.A.	Avda Segadors, s/n	17421 - RIUDARENES	jreixach@batalle.com
221	Resconi Brigglier Virginia	Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	resconi@unizar.es
222	Rezende Fernanda	IIFTA	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	frezende@usp.br
223	Ripoll Bosch Ramon	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	rripoll@aragon.es
224	Ripoll García Guillermo	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	gripoll@aragon.es
225	Rodrigues Sandra	ESA-CIMO. Campus Santa Apolónia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANÇA (Portugal)	teixeira@ipb.pt
226	Rodriguez de Cara Ángeles	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	rodriguez.angeles@inia.es
227	Rodriguez López José Miguel	CSIC - Estación Experimental del Zaidin	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	josemiguel.rodriguez@eez.csic.es
228	Rodriguez Prado María	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	maria.rodriguez.prado@uab.cat
229	Rodriguez Sánchez José Antonio	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	jarodriguez@ext.aragon.es
230	Rodriguez Valdivinoso Mª Carmen	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	valdo@inia.es
231	Román Grande Mª Teresa	ETSIAA - Universidad de Valladolid. Campus La Yutera	Avda. Madrid, s/n	34071 - PALENCIA	teroman@agro.uva.es
232	Romar Andrés Raquel	Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria	Campus Espinardo	30100 - ESPINARDO	rromar@um.es

233	Ros Friexedes Roger	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	ros@prodan.udl.cat
234	Ruiz Mantecon Angel	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña	Finca Marzanas s/n	24346 - GRULLEROS	mantecon@eez.csic.es
235	Sakr-Osama G.	Universidad Politécnica de Madrid (UPM)	Avda. Puerta de Hierro s/n	28040 - MADRID	osmasakr@gmail.com
236	Salces Ortiz Judit	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	judit.salces@inia.es
237	Sánchez Alarcón Samanta Rita	Universidad Pública de Navarra-Instituto de Agrobiotecnología	Ctra. Mutilla Baja	31192 - MUTILLA BAJA	sem_ibmb@yahoo.com
238	Sánchez Bayón Marcelo	IMASDE AGROALIMENTARIA, S.L.	C/ Napóles, 3	28224 - POZUELO DE ALARCÓN	msanchez@e-imasde.com
239	Sánchez Serrano Juan Pablo	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	juan.p.sanchez.serrano@gmail.com
240	Sanchis Pollo Jaime	Universidad de la República (Regional Norte), Parasitología		SALTO (Uruguay)	sanchisjaime@gmail.com
241	Santacreu Jerez María Antonia	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	msantacreu@dca.upv.es
242	Sanz Pascua Albina	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	asanz@aragon.es
243	Sañudo Astiz Carlos	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	csanudo@unizar.es
244	Sarriés Martínez Mª Victoria	Universidad Pública de Navarra (UPN)	Campus de Arossada, s/n	31006 - PAMPLONA	vsarries@unavarra.es
245	Schneider Lemes Jacqueline	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	schneiderlemes@yahoo.com.br
246	Serra Pesquer Mar	INTERQUIM, S.A.	Avda. Diagonal 549, 5ª planta	08029 - BARCELONA	mserra@ferreirupco.com
247	Serrano Blesa Edith	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	e.serranoblesa@gmail.com
248	Serrano Gorriç Paula	CITA - IVA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	serrano_pau@gva.es
249	Serrano Martínez Emma	Centro de Investigación y Formación Agrarias	C/ Héroes 2 de Mayo, 27	39600 - MURIEDAS	emmaserrano@cifacantabria.org
250	Serrano Pérez Beatriz	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	bserrano@prodan.udl.cat
251	Silló López Luis	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	sillo@inia.es
252	Silva Agostini Piero da	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	piero.dasilva@uab.cat
253	Silveira Nicoloso Carolina da	Universidade Federal de Santa Maria	Avda. Antonio Lozza, 24	91191 - BELLATERRA	carolinanicoloso@hotmail.com
254	Sjurana Marina Adriana	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	acsjur@uab.cat
255	Soñá-Oriol David	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	david.soña@uab.cat
256	Sontes Hammami	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Sontes.Hammami@uab.cat
257	Suárez Belloch Jesús	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	jesussuabell@gmail.com
258	Suárez Vega Aroa	Universidad de León	Campus de Vegazana, s/n	24071 - LEON	asuara@unileon.es
259	Teixeira Alfredo	ESA-CIMO, Campus Santa Apolónia	Apdo. 172	5301-855 BRAGANCA (Portugal)	teixeira@ipb.pt
260	Tejreira Barrado David	Centro de Investigación Finca La Orden-Valdeesequera	Autovía A-5, Km 372	06187 - GUADAJIRA	david.tejreira@unibaextremadura.net
261	Tomás Almenar Cristina	CITA - IVA	Pol.Ind. La Esperanza 100 Apdo.187	12400 - SEGORBE	tomas_crialm@gva.es
262	Tor Naudi Marc	Universidad de Lleida (UdL)	Avda. Alcalde Rovira Roure 191	25198 - LLEIDA	mtor@prodan.udl.cat
263	Uriarte Abad Joaquín	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	juariarte@aragon.es
264	Valandro Soares Julio Cesar	Universidade Federal de Goiás/Campus Catalão (UFG/CAC)	Rua Ana Rosa Jesus, 64, Apdo.204	75705-080 - GOIÁS, Brasil	j-cvs@hotmail.com
265	Valcárcel Félix	CISA-INIA	Ctra. Algete a El Casar	28130 - VALDEOLIMOS	valcarcel.felix@inia.es
266	Valdés Solís Carmen	CSIC - Instituto de Ganadería de Montaña (Univ. León)	Campus de Vegazana, s/n	27071 - LEON	cvals@unileon.es
267	Varona Luis	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	lvarona@unizar.es
268	Vasquez Lopez Fabio	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	520455@unizar.es
269	Vico Juan Pablo	CITA de Aragón	Avda. Montañana, 930	50059 - ZARAGOZA	vico.juanpablo@gmail.com
270	Villanueva Gavña Beatriz	INIA	Ctra. La Coruña, km 7.5	28040 - MADRID	villanueva.beatriz@inia.es
271	Villegas Gómez Juan Ramón	OCA Pedroches II, Junta Andalucía (Consej. Agric. y Pesca)	Miguel Servet, 177	14270 - HINOJOSA DEL DUQUE	juanr.villegas@juntaandalucia.es
272	Yañiz Pérez de Albeniz Jesús	Universidad de Zaragoza, Facultad de Veterinaria	Miguel Servet, 177	50013 - ZARAGOZA	lyaniz@unizar.es
273	Yañez Ruiz David R.	CSIC - Estación Experimental del Zaidín	Profesor Albarceda, 1	18008 - GRANADA	david.yanez@eez.csic.es
274	Zidi Ali	Universidad Autónoma de Barcelona (UAB)	Campus de la UAB	08193 - BELLATERRA	Ali.Zidi@uab.cat
275	Zomeño Segado Crislina	Universidad Politécnica de Valencia (UPV)	Camino de Vera, s/n	46022 - VALENCIA	crizose@posgrado.upv.es
276	Zudaire Plaza Garbife	Universidad Pública de Navarra (UPN)	Campus de Arossada, s/n	31006 - PAMPLONA	garbife.zudaire@unavarra.es



CIHEAM

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2010-11-12

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	* MEJORA GENÉTICA VEGETAL	4 Oct. 10/10 Jun. 11	Zaragoza	IAMZ/UdL
	* OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	26 Sep. 11/31 Mayo 12	Córdoba	UCO/JA/CSIC/COI/ INIA/IAMZ
	USO DE LA TELEDETECCIÓN PARA LA GESTIÓN DEL RIEGO	21-26 Nov. 11	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto Telerieg
	PRODUCCIÓN DE MEDICAMENTOS A PARTIR DE PLANTAS	16-20 Ene. 12	Zaragoza	IAMZ
	USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN MEJORA VEGETAL	20 Feb./2 Mar. 12	Barcelona	IAMZ/IRTA/CRAG
	GESTIÓN DE MALAS HIERBAS EN LA AGRICULTURA ACTUAL	16-20 Abr. 12	Zaragoza	IAMZ/EWRS/SEMh/ IWSS
PRODUCCIÓN ANIMAL	PRODUCCIÓN CAPRINA	15-26 Nov. 10	Murcia	IAMZ/CAA-CARM
	CONSERVACIÓN Y GESTIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS ANIMALES	17-21 Ene. 11	Zaragoza	IAMZ/FAO
	APLICACIONES DE LA GENÓMICA EN MEJORA ANIMAL	21-25 Mar. 11	León	IAMZ/Univ. León
	PRODUCCIÓN AVÍCOLA EN CLIMAS CÁLIDOS	9-14 Mayo 11	Zaragoza	IAMZ
	* NUTRICIÓN ANIMAL	3 Oct. 11/8 Jun. 12	Zaragoza	IAMZ/UZ/FEDNA/ UPM
	* MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN	3 Oct. 11/29 Jun. 12 Barcelona	Valencia/ IVIA/INIA/IRTA/	UPV/UAB/IAMZ/ AGROALIMED

(*) **Cursos de Especialización de Postgrado** del correspondiente Programa Master of Science (+marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 10-11; 12-13; 14-15
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 11-12; 13-14; 15-16
- NUTRICIÓN ANIMAL: 11-12; 13-14; 15-16
- MEJORA GENÉTICA ANIMAL Y BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN: 11-12; 13-14; 15-16
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 10-11; 12-13; 14-15
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 11-12; 13-14; 15-16
- ACUICULTURA: 10-11; 12-13; 14-15
- GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE: 11-12; 13-14; 15-16

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización de posgrado. No obstante se estructuran en unidades independientes para facilitar la asistencia de profesionales interesados en aspectos parciales del programa. Los participantes que cumplan los requisitos académicos pueden optar a la realización del 2º año para la obtención del Título Master of Science. El plazo de inscripción para el curso de Olivicultura y elaiotecnica finaliza el 15 de Abril 2011. El plazo de inscripción para los cursos de Nutrición animal, Mejora genética animal y biotecnología de la reproducción, Marketing agroalimentario y Gestión pesquera sostenible finaliza el 4 de Mayo 2011. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente y Acuicultura finaliza el 4 de Mayo 2012. El Estado Español reconoce el título Master of Science del CIHEAM otorgado a través del IAMZ como equivalente al título oficial de Máster del sistema universitario español.

Los cursos de corta duración están orientados preferentemente a investigadores y profesionales relacionados en el desarrollo de sus funciones con la temática de los distintos cursos. El plazo de inscripción para los cursos de corta duración finaliza 90 días antes de la fecha de inicio del curso.

Becas. Los candidatos de países miembros del CIHEAM (Albania, Argelia, Egipto, España, Francia, Grecia, Italia, Libano, Malta, Marruecos, Portugal, Túnez y Turquía) podrán solicitar becas que cubran los derechos de inscripción, así como becas que cubran los gastos de viaje y de estancia durante el curso. Los candidatos de otros países interesados en disponer de financiación deberán solicitarla directamente a otras instituciones nacionales o internacionales.

No obstante, en algunos cursos coorganizados con otras instituciones pueden existir becas destinadas a candidatos de algunos países no miembros del CIHEAM. Se recomienda consultar el correspondiente apartado de becas en el folleto informativo que se edita específicamente para cada uno de los cursos programados.

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
MEDIO AMBIENTE	* PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	4 Oct. 10/10 Jun. 11	Zaragoza	IAMZ/UdL
	ECONOMÍA AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	7-18 Feb. 11	Zaragoza	IAMZ
	RESTAURACIÓN ECOLÓGICA DE RÍOS MEDITERRÁNEOS	19-24 Sep. 11	Zaragoza	IAMZ
	LOS INCENDIOS FORESTALES EN LA PERSPECTIVA DEL CAMBIO GLOBAL	13-17 Feb. 12	Zaragoza	IAMZ/UE-Proyecto FUME
	SISTEMAS DE AYUDA A LA DECISIÓN PARA EL DESARROLLO Y LA GESTIÓN MEDIOAMBIENTAL DE ZONAS RURALES	19-23 Mar. 12	Zaragoza	IAMZ
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS GEOESPACIALES EN ESTUDIOS AMBIENTALES	11-22 Jun. 12	Zaragoza	IAMZ
COMERCIALIZACIÓN	MARKETING DE PRODUCTOS ECOLÓGICOS	18-22 Oct. 10	Zaragoza	IAMZ
	INCORPORACIÓN DE LA CALIDAD Y LA SEGURIDAD ALIMENTARIA EN LOS PLANES DE MARKETING	4-8 Abr. 11	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING PARA LOS PRODUCTORES AGRARIOS LOCALES	13-17 Jun. 11	Zaragoza	IAMZ
	* MARKETING AGROALIMENTARIO	3 Oct. 11/8 Jun. 12	Zaragoza	IAMZ
	* ACUICULTURA	18 Oct. 10/31 Mayo 11	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/IAMZ
PESCA Y ACUICULTURA	GESTIÓN DE LA SEGURIDAD EN MOLUSCOS BIVALVOS	27 Sep./1 Oct. 10	Santiago de Compostela	IAMZ/Univ. Santiago de Compostela/FAO
	CULTIVO DE ALGAS MARINAS: TÉCNICAS, USOS Y PERSPECTIVAS DE DESARROLLO	22-26 Nov. 10	Zaragoza	IAMZ
	HERRAMIENTAS PARA EL SEGUIMIENTO Y VIGILANCIA EN LOS SISTEMAS DE CONTROL DE LA PESCA	14-18 Mar. 11	Zaragoza	IAMZ/FAO
	MONITORIZACIÓN DE LOS EFECTOS AMBIENTALES DE LA ACUICULTURA	23-27 Mayo 11	Murcia	IAMZ/CAA-CARM
	* GESTIÓN PESQUERA SOSTENIBLE	17 Oct. 11/15 Jun. 12	Alicante	UA/MARM/IAMZ
	EVALUACIÓN DE LA CALIDAD Y LA SEGURIDAD DEL PESCADO Y DE LOS PRODUCTOS DE LA PESCA	17-21 Oct. 11	Derio	IAMZ/AZTI-Tecnalia/FAO
	ANÁLISIS DEL RIESGO SANITARIO EN ACUICULTURA	12-16 Dic. 11	Zaragoza	IAMZ
	AVANCES EN REPRODUCCIÓN DE PECES Y SU APLICACIÓN AL MANEJO DE REPRODUCTORES	23-27 Ene. 12	Castellón	IAMZ/CSIC-IATS
	SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN Y SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA	14-18 Mayo 12	Zaragoza	IAMZ

Información e inscripción. Los folletos informativos de cada curso se editan 6-8 meses antes de la fecha de inicio. Dichos folletos, así como los correspondientes formularios de solicitud de admisión pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Avenida de Montañana 1005, 50059 Zaragoza (España)
 Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org
www.iamz.ciheam.org

Tomo II (2011)

AIDA

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

www.aida-itea.org

