



**TESIS GANADORA DEL “I PREMIO CÁTEDRA AGROBANK
A LA MEJOR TESIS DOCTORAL”**

The cover features a purple and blue starry background. At the top center is the seal of the 'UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID'. To the left of the seal is the text 'UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID' and to the right is 'FACULTAD DE VETERINARIA'. The title is centered in bold black text: 'EFECTO DE LA INTRODUCCIÓN DE GENÉTICA DUROC Y DE LA RESTRICCIÓN DE VITAMINA A EN LA DIETA SOBRE PARÁMETROS PRODUCTIVOS, EXPRESIÓN GÉNICA Y CALIDAD DE LA CARNE EN EL CERDO IBÉRICO'. Below the title are three circular images: a top one showing feed pellets, a bottom-left one showing two pigs under a tree, and a bottom-right one showing a DNA double helix. Black arrows connect these images in a clockwise cycle. Text between the images reads: 'Tesis Doctoral presentada por MIRIAM AYUSO HERNANDO' and 'Realizada bajo la dirección de las doctoras CRISTINA ÓVILO MARTÍN BEATRIZ ISABEL REDONDO ANA ISABEL REY MUÑOZ'. At the bottom center, it says 'MADRID, 2015'.

RESUMEN DE LA TESIS GANADORA DEL “I PREMIO CÁTEDRA AGROBANK A LA MEJOR TESIS DOCTORAL”

Autora: Dra. Miriam Ayuso Hernando.

Directoras: Dra. Cristina Óvilo Martín, Dra. Beatriz Isabel Redondo y Dra. Ana Isabel Rey Muñoz.

Título: Efecto de la introducción de genética Duroc y de la restricción de vitamina A en la dieta sobre parámetros productivos, expresión génica y calidad de la carne en el cerdo ibérico.

INTRODUCCION Y OBJETIVOS

El cerdo ibérico es una raza rústica que presenta un menor desarrollo muscular que otras razas, una carne más grasa y bajos rendimientos productivos y reproductivos; destaca, además, por la alta calidad de sus productos. Con el fin de aumentar la eficiencia productiva de la raza, se emplea la genética Duroc como línea paterna, aunque la calidad de la carne disminuye en los animales cruzados [1]. Entre los factores que determinan la calidad de los productos ibéricos, destacan la cantidad de grasa infiltrada o grasa intramuscular (GIM) y su composición (es rica en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) como el ácido oleico, también abundante en el aceite de oliva), así como el contenido en antioxidantes como la vitamina E [1]. La cantidad y composición de la GIM es muy variable, y ambas vienen determinadas en gran parte por la genética, la nutrición, el sexo o la edad [2-5].

Los efectos del cruzamiento con cerdos Duroc sobre el crecimiento y la calidad de la carne se han estudiado extensamente [6-8] Por otro lado, se han realizado esfuerzos para conocer con mayor profundidad los cambios a nivel genético que podrían estar detrás de dichos efectos [9].

Otro de los factores que afecta al contenido y composición de la GIM es la nutrición. Por ejemplo, se ha observado que los niveles de incorporación de ciertos micronutrientes en la dieta, como la vitamina A, pueden modificar el contenido y composición de la GIM [10, 11]. La vitamina A es conocida por sus efectos negativos sobre la acumulación de grasa [12], lo que podría deberse a su capacidad para alterar la expresión de ciertos genes relacionados con el metabolismo y la acumulación de grasa.

Teniendo en cuenta los conocimientos previos y las cuestiones aún por resolver, nos planteamos llevar a cabo un proyecto de investigación con dos objetivos principales: el primero, fue conocer y entender con mayor profundidad los cambios genéticos, referidos al

funcionamiento del genoma (expresión génica), que podrían ser responsables de las diferencias observadas entre cerdos ibéricos puros y cruzados. El segundo, fue evaluar la eficacia de la restricción de vitamina A en la dieta como estrategia nutricional para aumentar la cantidad y mejorar la composición de la GIM en el cerdo Ibérico.

PLANTEAMIENTO

Para la consecución de estos objetivos, se diseñaron dos ensayos experimentales. En el primero, se estudió el efecto del cruzamiento con Duroc y de la edad (1 día y 4 meses de edad) sobre el fenotipo y la expresión génica. Para ello, se analizaron diversos caracteres de interés (tamaño corporal, indicadores plasmáticos del metabolismo de la glucosa y el colesterol, cantidad y composición de GIM) en cerdos ibéricos puros (IB) y cruzados (DUxIB). También se analizó el transcriptoma (patrón de los niveles de expresión de todos los genes en un animal y momento concretos) de dos músculos que conforman dos cortes de alta relevancia económica, el lomo (musculo Longissimus dorsi (LD)) y el jamón (musculo Biceps femoris (BF)).

En el segundo ensayo, se cuantificó el efecto de la suplementación (10,000 UI/kg pienso) y la restricción (0 UI/kg pienso) de vitamina A sobre caracteres de interés, y sobre la expresión de genes relacionados con estos caracteres. La restricción de VA comenzó a los 2 (restricción temprana) o 4 meses de edad (restricción tardía) y sus efectos se estudiaron a lo largo del crecimiento y cebo.

Se evaluaron caracteres como el rendimiento productivo, el número de células adiposas inmaduras (preadipocitos), el contenido y composición de la GIM y la acumulación de vitaminas A y E, de nuevo en el lomo y en el jamón. También se estudió la expresión de genes candidato relacionados con los caracteres mencionados.

RESULTADOS DE LA TESIS DOCTORAL

Los resultados del primer ensayo revelaron diferencias importantes en las dos edades estudiadas. Los cerdos IB fueron más pequeños y ligeros al nacimiento y presentaron mayores niveles de colesterol que los IBxDU. Sin embargo, estas diferencias no se observaron a los 4 meses de edad. Por otro lado, los neonatos IB mostraron una mayor cantidad de GIM que los IBxDU en el músculo BF, aunque esta diferencia no se observó en el LD hasta los 4 meses de edad. La composición de la GIM al nacimiento fue muy similar en ambos tipos genéticos, aunque a los 4 meses de edad los cerdos IB mostraron una menor proporción de ácidos

grasos omega 6 respecto a omega 3, lo cual representa una ventaja desde el punto de vista de la salud del consumidor. En cuanto al análisis del transcriptoma, la edad fue el factor que más afectó a la expresión génica: 5,812 genes presentaron un nivel de expresión distinto entre las edades estudiadas. El cruzamiento con Duroc y el tipo de músculo tuvieron un efecto menor, con 260 y 100 genes mostrando diferentes niveles de expresión entre ambos grupos y músculos, respectivamente. En general, los animales al nacimiento mostraron mayor expresión en aquellos genes relacionados con procesos crecimiento y desarrollo. En ambos músculos, los cerdos IB mostraron mayor expresión en genes relacionados con el metabolismo de la grasa. Este ensayo ha permitido identificar numerosos genes reguladores que podrían jugar un papel fundamental en el control de la función génica relacionada con el desarrollo de las diferencias observadas a nivel de crecimiento y de calidad de carne. Algunos de los más importantes, que proponemos como potenciales genes candidato son CEBPA, EGRs, PPARGC1B, FOXOs, MYOD1, SIM1, PVALB, MEFs, TCF7L2 o FOXO1. Además, se identificaron mutaciones en algunos de ellos, por ejemplo, PPARGC1B.

El segundo ensayo evidenció un claro efecto del nivel de vitamina A en la dieta sobre su acumulación en distintos tejidos corporales, aumentando en los animales suplementados y disminuyendo en los restringidos. También se observó que la acumulación de vitamina A tiene un efecto negativo sobre la acumulación de vitamina E. La restricción de vitamina A no afectó a la eficiencia productiva de estos cerdos; sin embargo, los animales restringidos mostraron un mayor número de preadipocitos a los 4 meses de edad, lo que supone un aumento en su capacidad para acumular grasa en etapas más tardías del desarrollo. De acuerdo con este resultado, la cantidad de la GIM y su composición fueron muy diferentes al final del ciclo productivo. El contenido en GIM aumentó en los músculos del jamón y del lomo de los animales restringidos. En cuanto a la composición, la restricción de vitamina A aumentó la cantidad de AGMI y disminuyó la de ácidos grasos saturados. Este efecto fue más marcado en animales ER que en LR. Finalmente, la vitamina A modificó la expresión de genes como ACSL4, CEBPB, IGF1, CRABP2 o SCD, relacionados con el metabolismo de la vitamina A, de la grasa y con el desarrollo de células grasas.

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral mejoran el conocimiento actual sobre los mecanismos genéticos implicados en las diferencias de crecimiento y acumulación de grasa entre cerdos ibéricos puros y cruzados. Por otro lado, nuestros resultados sugieren que la restricción de la vitamina A ejerce un efecto sobre dichos mecanismos, que tiene como consecuencia final una mejora en la calidad de la carne en el cerdo ibérico.

REFERENCIAS

1. Ventanas S, Ventanas J, Jurado A, Estevez M. Quality traits in muscle biceps femoris and back-fat from purebred Iberian and reciprocal Iberian x Duroc crossbred pigs. *Meat Science*. 2006;73(4):651-9.
2. Bahelka, I., Hanusová, E., Peskovicova, D., Demo, P., 2007. The effect of sex and slaughter weight on intramuscular fat content and its relationship to carcass traits of pigs. *Czech Journal of Animal Science* 52, 122.
3. Edwards, S., 2005. Product quality attributes associated with outdoor pig production. *Livestock Production Science* 94, 5-14.
4. Rey A, Daza A, López-Carrasco C, López-Bote C. Feeding Iberian pigs with acorns and grass in either free-range or confinement affects the carcass characteristics and fatty acids and tocopherols accumulation in Longissimus dorsi muscle and backfat. *Meat science*. 2006;73(1):66-74.
5. Suarez-Belloch, J., Sanz, M., Joy, M., Latorre, M., 2013. Impact of increasing dietary energy level during the finishing period on growth performance, pork quality and fatty acid profile in heavy pigs. *Meat Science* 93, 796-801.
6. Ventanas, S., Ventanas, J., Ruiz, J., 2007. Sensory characteristics of Iberian dry-cured loins: Influence of crossbreeding and rearing system. *Meat science* 75, 211-219.
7. Fuentes V, Ventanas S, Ventanas J, Estévez M. The genetic background affects composition, oxidative stability and quality traits of Iberian dry-cured hams: purebred Iberian versus reciprocal Iberian× Duroc crossbred pigs. *Meat science*. 2014;96(2):737-43.
8. Serrano M, Valencia D, Nieto M, Lázaro R, Mateos G. Influence of sex and terminal sire line on performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive production systems. *Meat science*. 2008;78(4):420-8.
9. Ovílo, C., Benítez, R., Fernández, A., Nunez, Y., Ayuso, M., Fernández, A., Rodríguez, C., Isabel, B., Rey, A., Lopez-Bote, C., Sillio, L., 2014. Longissimus dorsi transcriptome analysis of purebred and crossbred Iberian pigs differing in muscle characteristics. *BMC Genomics* 15, 413.
10. D'Souza, D.N., Pethick, D.W., Dunshea, F.R., Pluske, J.R., Mullan, B.P., 2003. Nutritional manipulation increases intramuscular fat levels in the Longissimus muscle of female finisher pigs. *Aust. J. Agric. Res.* 54, 745-749.
11. Olivares, A., Daza, A., Rey, A.I., Lopez-Bote, C.J., 2009. Interactions between genotype, dietary fat saturation and vitamin A concentration on intramuscular fat content and fatty acid composition in pigs. *Meat Science* 82, 6-12.
12. Bonet, M., Ribot, J., Felipe, F., Palou, A., 2003. Vitamin A and the regulation of fat reserves. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* 60, 1311-1321.