

VARIACIÓN DEL TAMAÑO DE LOS ADIPOCITOS SEGÚN EL NIVEL DE VITAMINA A EN LA DIETA, EL TIPO DE ALIMENTACIÓN Y LA CASTRACIÓN EN CERDOS DUROC DE DISTINTO GENOTIPO *LEPR*

Solé¹, E., Pena¹, RN., Bosch², L., Tor¹, M., Reixach³, J. y Estany¹, J.

¹Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida - Agrotecnio Center, Lleida.

²Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona, Girona. ³Selección Batallé, Riudarenes, Girona

emma.sole@ca.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El contenido de grasa intramuscular (GIM) y su composición tienen gran importancia en la calidad de la carne, ya que influyen caracteres como la jugosidad y el sabor (Wood et al., 2003). En cerdos, la dieta y la ración influyen directamente tanto en la cantidad como en la composición de la grasa (Wood et al., 2008). En este sentido, se ha observado que la restricción de vitamina A en la dieta puede incrementar el contenido de GIM (Ayuso et al., 2015a), aunque la magnitud de este efecto depende del genotipo de cada animal (Olivares et al., 2009). La restricción al 75-80% del consumo de pienso ad libitum también se ha asociado con un mayor depósito de GIM (Daza et al., 2007), aunque suele ir acompañado de un efecto negativo en el crecimiento. Por otra parte, el contenido y la composición de la grasa, en especial GIM, están sujetos a una fuerte componente genética. La mutación descrita en el gen receptor de la leptina (*LEPR*) por Óvilo et al. (2005) es una de las pocas que se conocen cuyo efecto explica una parte relevante de la variación del contenido de grasa y de GIM en porcino. Por último, la castración es posiblemente el factor de manejo más determinante para aumentar la GIM. Una alternativa a la castración quirúrgica es la inmunocastración. En este trabajo se presenta un experimento diseñado para explorar el efecto del nivel de vitamina A en la dieta, la restricción del consumo y la inmunocastración sobre los caracteres de producción y de la calidad de la canal, la carne y la grasa según el genotipo *LEPR*. El objetivo de esta primera entrega es presentar los primeros resultados del experimento y en particular discutir el efecto de los anteriores factores sobre el tamaño de los adipocitos de la grasa subcutánea (GSC) e intramuscular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Experimento. A los dos meses de edad se distribuyeron 220 cerdas en 20 cuadras de 11 individuos de una misma granja. Todas las cerdas eran originarias de la misma línea Duroc en la que la mutación *LEPR* segrega. Las cuadras se asignaron a cada tratamiento de forma alternativa de acuerdo con un diseño factorial 2x2, según el nivel de vitamina A (con [+] y sin [-] suplementación) y el tipo de alimentación (A: ad libitum y R: restringida). La mitad de las cerdas de cada cuadra permanecieron enteras (E) mientras que la otra mitad fueron inmunocastradas (IC). Las cerdas se engordaron hasta los 7 meses de edad siguiendo el mismo programa de alimentación. El pienso [+] se suplementó con 7840-4900 UI Vitamina A/kg según la fase del programa de alimentación, mientras que en el pienso [-] no se añadió vitamina A en el corrector. Las cerdas en las cuadras con alimentación restringida comieron entre los 30 y 50 kg de peso vivo un tercio menos que los esperados ad libitum. La inmunocastración se practicó mediante la aplicación de tres dosis de la vacuna Improvac® /Vacsincel® (Zoetis). Las cerdas se pesaron cinco veces durante el engorde hasta que a los 7 meses de edad se sacrificaron en un matadero comercial. A un total de 80 hembras, dos hembras enteras y dos hembras inmunocastradas elegidas al azar por cuadra, se les controló el peso de la canal, el espesor de la grasa dorsal, la profundidad del lomo, el porcentaje de magro y el peso del jamón. De cada una de estas cerdas se recogieron muestras de sangre, hígado, músculo *gluteus medius* (GM) y GSC.

Genotipado. Se aisló ADN del músculo GM para determinar el genotipo del polimorfismo del exón 14 del gen *LEPR* (NM_001024587:g.1987C>T) mediante un protocolo de High Resolution Melt (Luminaris Color HRM Master Mix, ThermoFisher) en un termociclador a tiempo real (QuantStudio 3, LifeTechnologies).

Estudio histológico. Se eligieron 56 muestras de GSC y GIM distribuidas equilibradamente entre tratamientos, las cuales fueron congeladas a -80°C y procesadas mediante un criostato. A continuación, se tificaron con Oil Red O durante 6 minutos y Hematoxilina de Mayer 1 minuto y se analizaron mediante un microscopio óptico (Olympus bx50, Nikon Act-1). En cada muestra se midió el área de 25 adipocitos con el programa *ImageJ* (Mehlem *et al.*, 2013).

Análisis de datos. Los caracteres tomados en matadero y el área de los adipocitos se analizaron mediante un modelo en el que se incluyeron como factores fijos el nivel de vitamina A ([+] y [-]); el tipo de alimentación (A y R); la inmunocastración (IC y E); y el genotipo *LEPR* (C y T, atendiendo a la naturaleza dominante de C), así como las correspondientes interacciones dobles. Este análisis se realizó utilizando el paquete estadístico JMP 12 (SAS Institute Inc.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ni la restricción de vitamina A en la dieta ni la alimentación restringida tuvieron efecto sobre los caracteres medidos en matadero (Tabla 1), excepto en el peso de la canal, que fue mayor en las cerdas suplementadas con vitamina A ($P < 0.05$). Estos resultados están en sintonía con los obtenidos por Ayuso *et al.* (2015b) y Olivares *et al.* (2009), quienes observaron que la restricción de vitamina A en la dieta no afectaba el rendimiento productivo. En cambio, la inmunocastración afectó a todos los caracteres estudiados. Así, las hembras inmunocastradas presentaron mayor peso de la canal y del jamón y mayor espesor de grasa dorsal. En contrapartida, la profundidad del lomo y el porcentaje de magro disminuyeron. De forma similar, el alelo T del gen *LEPR* promovió la deposición de grasa y disminuyó el porcentaje de magro, en consistencia con resultados anteriores obtenidos en esta misma línea (Ros-Freixedes *et al.*, 2016).

Tabla 1. Medias mínimos-cuadráticas (\pm error típico) del peso de la canal (PC), del espesor de grasa (GD) y la profundidad de lomo (PL), peso del jamón (PJ) y porcentaje de magro según el nivel de vitamina A, tipo de alimentación, castración y genotipo *LEPR*¹.

Carácter	Vitamina A		Alimentación		Castración		<i>LEPR</i>	
	[+]	[-]	A	R	E	IC	C	T
PC , Kg	93,2 \pm 1,1 ^a	90,0 \pm 1,0 ^b	92,7 \pm 1,0	90,6 \pm 1,0	88,7 \pm 1,0 ^b	94,6 \pm 1,0 ^a	90,6 \pm 0,8	92,7 \pm 1,3
PJ , Kg	11,7 \pm 0,1	11,4 \pm 0,1	11,6 \pm 0,1	11,4 \pm 0,1	11,3 \pm 0,1 ^b	11,8 \pm 0,1 ^a	11,5 \pm 0,1	11,6 \pm 0,1
GD , mm	35,6 \pm 1,1	33,8 \pm 0,9	34,4 \pm 1,0	35,0 \pm 1,0	32,0 \pm 1,0 ^b	37,3 \pm 1,0 ^a	32,8 \pm 0,8 ^b	36,6 \pm 1,2 ^a
PL , Kg	41,6 \pm 1,1	40,8 \pm 1,0	40,7 \pm 1,0	41,6 \pm 1,1	43,1 \pm 1,1 ^a	39,3 \pm 1,1 ^b	43,2 \pm 0,9 ^a	39,2 \pm 1,3 ^b
Magro , %	35,0 \pm 1,1	36,7 \pm 0,9	35,7 \pm 1,0	36,0 \pm 1,0	38,5 \pm 1,0 ^a	33,2 \pm 1,0 ^b	38,2 \pm 0,8 ^a	33,5 \pm 1,3 ^b

¹ Vitamina A: con [+] y [-] sin suplementación; Alimentación: ad libitum (A) y restringida (R); Castración: hembras enteras (E) e inmunocastradas (IC); y *LEPR*: genotipos CC y CT (C) y genotipo TT (T). ^{a,b} Dentro de cada fila y factor, las medias con superíndices distintos difieren significativamente ($P < 0.05$).

Los adipocitos de GSC fueron más grandes y más variables que los de GIM. La castración fue el único tratamiento que afectó el tamaño de los adipocitos (Tabla 2), que resultaron ser más grandes en las hembras inmunocastradas que en las enteras, tanto en GSC como en GIM, lo que confirmaría que el mayor contenido graso de los castrados se explica en parte por una mayor hipertrofia de los adipocitos.

Tabla 2. Medias mínimos-cuadráticas (\pm error típico) del tamaño de los adipocitos (μm^2) de la grasa subcutánea (GSC) e intramuscular (GIM) según tratamiento¹

Grasa	Vitamina A		Alimentación		Castración		LEPR	
	[+]	[-]	A	R	E	IC	C	T
GSC	59,1 \pm 3,0	55,5 \pm 2,6	59,0 \pm 2,8	55,6 \pm 2,8	53,1 \pm 2,8 ^b	61,6 \pm 2,8 ^a	55,0 \pm 2,3	59,7 \pm 3,5
GIM	32,1 \pm 1,5	33,1 \pm 1,3	33,2 \pm 1,4	31,1 \pm 1,4	30,1 \pm 1,4 ^b	34,5 \pm 1,4 ^a	32,0 \pm 1,1	33,2 \pm 1,7

¹ En la tabla 1 está la explicación de cada tratamiento.

^{a,b} Dentro de cada fila y factor, las medias con superíndices distintos difieren significativamente ($P < 0.05$).

No se observó relación entre el tamaño de los adipocitos de GSC y el de los GIM ($r = 0,18$; $P > 0,05$), lo que indicaría que ambos tejidos presentan patrones de desarrollo diferentes. La interacción entre el nivel de vitamina A de la dieta y la castración fue significativa ($P < 0,05$), de tal manera que la inmunocastración aumentó el tamaño de los adipocitos de GIM cuando el pienso se suplementó con vitamina A (35,7 μm^2 , en IC, y 28,1 μm^2 , en E), pero no cuando no se suplementó (33,0 μm^2 y 32,9 μm^2 , en IC y E, respectivamente). Este resultado sugiere que la vitamina A potencia específicamente la lipogénesis en GIM en los animales con mayor capacidad de deposición de grasa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayuso, M. et al. 2015. J. Anim Sci. 93:2730–2744a.
- Ayuso, M. et al. 2015. Meat Sci. 108:9–16b.
- Daza, A. et al. 2007. Anim. Feed Sci. Tech. 138:61-74.
- Mehlem, A. et al. 2013. Nat Protoc. 8:1149-1154.
- Olivares, A. et al. 2009. Meat Sci. 82:6–12.
- Óvilo, C. et al. 2005. Gen Res, 85:57-67.
- Ros-Freixedes, R. et al. 2016. PLoS ONE. 11:1-18.
- Wood, J. D. et al. 2008. Meat Sci. 78:343–358.
- Wood, J. D. et al. 2003. Meat Sci. 66:21–32.

Agradecimientos: Experimento financiado por CDTI (IDI 20150115) y análisis histológico por MINECO (AGL2015-65846-R). E. Solé disfruta de una beca de la Universidad de Lleida.

EFFECT OF *LEPR* GENOTYPE, VITAMIN A CONCENTRATION, DIETARY RESTRICTION AND CASTRATION ON ADIPOCYTE SIZE OF DUROC PIGS

ABSTRACT: Intramuscular fat (IMF) content and composition are influenced by both genetic and environmental factors. The aim of the present study is to assess the effect of dietary vitamin A, dietary restriction and immunocastration by *LEPR* genotype on carcass traits and adipocytes size. 220 Duroc females were distributed randomly depending on three treatments: diet with or without vitamin A supplement (7840-4900 IU/kg), restricted or ad libitum access to feed for 1 month and immunocastrated or entire females. At slaughter, carcass traits were recorded, and samples from *gluteus medius* (GM) and subcutaneous backfat (SBF) were obtained. Pigs were genotyped for the exon 14 *LEPR* mutation. Vitamin A levels, diet restriction and *LEPR* genotype did not affect carcass traits. In contrast, immunocastrated females had heavier carcasses and bigger adipocytes both in IMF and in SBF. No relationship was observed between SBF and IMF adipocyte size ($r = 0.18$; $P > 0.05$). In addition, there was a significant interaction between immunocastration and dietary vitamin A affecting IMF adipocyte size only when diets were supplemented with vitamin A

Keywords: Vitamin A; adipocyte size; immunocastration; pig; *LEPR*