ISSN: 1130-6009

ITEA

PRODUCCIÓN ANIMAL

Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario

Vol. 100A N.º 1



ITEA

Información Técnica Económica Agraria
Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario
www.aida-itea.org

2004 - AÑO XXXV Vol. 100A N.º 1	**DIRECCIÓN Y REDACCIÓN** Montañana, 176 - Apartado 727 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA) Tel.: 34-976 716325 Fax.: 34-976 716335 E-mail: jmarin@eead.csic.es andreu@eead.csic.es cmmarin@aragob.es	Depósito legal: Z-577-82 ISSN: 1130-6009 INO Reproducciones, S.A. Polígono Miguel Servet, nave 13 50013 Zaragoza

COMITÉ DE REDACCIÓN

DIRECTOR: Juan A. Marín Velázquez
SUBDIRECTOR: Joaquín Uriarte Abad
EDITORES: Producción Vegetal: Pilar Andreu Puyal
Producción Animal: Clara M.ª Marín Alcalá
VOCALES: José Álvarez Álvarez
Rafael Delfa Belenguer
Joaquín Gómez Aparisi
Emilio Manrique Persiva
José Luis Alabart Álvarez
Azucena Gracia Royo
M.ª Dolores Quílez Sáez de Viteri
Marisol Luis Arteaga
Pere Alberti Lasalle

JUNTA DIRECTIVA DE A.I.D.A.

PRESIDENTE: Leonardo Plana Claver
VICEPRESIDENTES: 1.º Ángel Ruiz Mantecón
2.º Rafael Socias i Company
SECRETARIO: Eduardo Notivol Paino
TESORERO: Joaquín Uriarte Abad
VOCALES: Pere Alberti Lasalle
José Álvarez Álvarez
Clara M.ª Marín Alcalá
M.ª Teresa Paramio Nieto
Emilio Manrique Persiva
Antonio Felipe Mansergás
Rafael Delfa Belenguer

Prohibida toda reproducción total o parcial sin autorización expresa
de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario, editor titular del Copyright.

ITEA no se responsabiliza necesariamente con las opiniones vertidas en los artículos firmados
que publica, cuya responsabilidad corresponde a sus autores.

Suscripciones y Distribución

Información Técnica Económica Agraria publica tres números en volumen.
En 2004 se publicarán los volúmenes 100A y 100V correspondientes a las series Producción Animal y Producción Vegetal.

El precio de la suscripción para 2004 será de 27 € para una serie y de 36 € para las dos series.

Se acepta el intercambio con otras revistas.

ITEA. Apartado 727. 50080 Zaragoza (ESPAÑA)

RELACIÓN DE ARTÍCULOS PUBLICADOS EN ITEA (PRODUCCIÓN ANIMAL) DURANTE 2003

AUTOR Y TÍTULO	Rev. n.º	Pág.
A. ARGAMENTERÍA: *Red temática de alimentación animal*	99A-1	5
MARIANA BALLENT, HERMINIA GRACIELA LANDI, GLADYS BILBAO, ALBERTO DICK: *Pubertad, peso vivo y desarrollo corporal en diferentes biotipos bovinos productores de leche: una actualización bibliográfica*	99A-2	130
R. BERNABÉU, J. MARTÍNEZ DEL OLMO, H. VERGARA: *Evaluación financiera de las explotaciones apícolas de Castilla-La Mancha*	99A-1	47
O. FEED, J. FRANCO, P. GARCÍA: *Efecto de la administración de vitamina D3 sobre la terneza de la carne de vacas Hereford en pastoreo*	99A-1	41
D. FELICIANO, D. CAMARENA, L.M. ALBISU: *La comercialización de la carne de cordero fresco en Zaragoza*	99A-3	177
G. HERVÁS, N. MANDALUNIZ, L.M. OREGUI, A.R. MANTECÓN, P. FRUTOS: *Evolución anual del contenido de taninos del brezo* (Erica vagans) *y relación con otros parámetros indicativos de su valor nutritivo*	99A-1	69
A. LEGARRA, E. UGARTE, F. ARRESE: *Análisis del progreso genético en el esquema de mejora de la raza Latxa*	99A-3	192
J.C. MARTÍNEZ ÁVILA, J.J. JURADO GARCÍA: *Modelización de la productividad de un coto de caza menor*	99A-2	121
M.C. DE MIGUEL BILBAO, R. RODRÍGUEZ GONZÁLEZ, M. REDONDO CRISTÓBAL: *Análisis de estados financieros de las sociedades mercantiles acogidas a la Denominación de Origen de Guijuelo*	99A-2	105
R. PAZ, H. LIPSHITZ, R. ÁLVAREZ, P. USANDIVARAS: *Diversidad y análisis económico en los sistemas de producción lecheros caprinos* en el área de riego del Río Dulce-Santiago del Estero-Argentina	99A-1	10
L. TORRANO, J. VALDERRÁBANO: *Capacidad de utilización de la vegetación espontánea por los rumiantes*	99A-3	145
J.A. II DE VASCONCELOS SILVA, M. EIJI MATSUNAGA, J. PEREIRA ELER, J.B. STERMAN FERRAZ: *Análisis genético de la distancia de fuga en un rebaño de raza Nelore* (Bos taurus indicus)	99A-3	167
Z.G. VITEZICA, R.J.C. CANTET: *Ponderaciones de la información familiar e individual en modelos animales y BLUP: 1. Modelos con grupos genéticos. 2. Modelos con paternidad incierta*	99A-2	95

RELACIÓN DE ARTÍCULOS PUBLICADOS EN ITEA (PRODUCCIÓN VEGETAL) DURANTE 2003

AUTOR Y TÍTULO	Rev. n.º	Pág.
G. ACHIM, I. BOTU, M. BOTU, I. GODEANU, A. BACIU, S. COSMULESCU: *'Miroval', un nuevo patrón clonal para cultivares de ciruelo europeo*	99V-1	92
E.S. ALBÁS, S. JIMÉNEZ, J. APARICIO, M.A. MORENO: *Influencia de diferentes patrones híbridos almendro x melocotonero en la calidad del fruto de melocotonero*	99V-1	48
H.A. ALTUBE, R.S. RIVATA, M.G. ONTIVERO-URQUIZA, R.J. TABORDA: *Caracterización de variedades de almendro (*Prunus amigdalus Batsch*) mediante el polimorfismo enzimático*	99V-2	208
B.H. BARRITT, B.S. KONISHI, M.A. DILLEY: *Influencia de 12 clones de M.9 y otros 12 patrones enanizantes en el crecimiento, la productividad y la susceptibilidad al golpe de sol en el manzano 'Fuji'*	99V-1	132
A. BATTISTINI, E. SUBIRÀ BERINI: *Resultados agronómicos de 'Victor', un patrón semi-enanizante para cerezo*	99V-1	120
J. BONANY, J. CARBÓ, M. CASALS, I. IGLESIAS, R. MONTSERRAT: *Comportamiento de algunos patrones clonales de manzano en Girona y Lleida con especial referencia a la calidad del fruto*	99V-1	123
I. BOTU, E. TURCU, M. BOTU: *Nuevas selecciones de patrones de ciruelo con bajo vigor y elevada capacidad de propagación*	99V-1	83
B. DICHIO, C. XILOYANNIS, G. CELANO, L. VICINANZA, D. ESMENJAUD, J. GÓMEZ APARISI, G. SALESSES: *Comportamiento de nuevas selecciones de patrones de* Prunus *resistentes a nematodos agalladores en condiciones de asfixia*	99V-1	23
R. DOLCET-SANJUAN, E. CLAVERIA, J. BONANY, I. IGLESIAS, L. ASÍN, M.H. SIMARD: *Selección de nuevos patrones para peral: cribado* in vitro *y evaluación en campo para tolerancia a clorosis férrica*	99V-1	157
G. ECHEVERRÍA, M.L. LÓPEZ, J. GRAELL: *Compuestos aromáticos y calidad de manzanas 'fuji' durante su maduración en campo y posterior almacenamiento frigorífico*	99V-2	181
C. FEI, R. MASSAI, F. LORETI: *Observaciones preliminares sobre nueve patrones para melocotonero en un suelo de replantación*	99V-1	38
S. FRANKEN-BEMBENEK: *'GiSelA 3' (209/1) – Un nuevo patrón clonal de cerezo de la serie giessen*	99V-1	97
J. GARCÍA BRUNTON, L. RINCÓN, J. SÁEZ: *Respuesta del melocotonero 'Catherine' injertado sobre 16 patrones con cuatro niveles de riego*	99V-1	75
J.R. GISPERT FOLCH: *Influencia de la enmienda cálcico-magnésica en la producción y calidad de pradera natural de montaña con suelos ácidos*	99V-2	196
D. GÓMEZ DE BARREDA, M. GAMÓN, A. DEL BUSTO, A. IÑIGUEZ, A. TEN, J.M.ª VALDÉS, A. SAEZ, J. GARCÍA, L. SÁNCHEZ, I. PERIS, J.G.ª DE LA CUADRA: *Absorción radicular de simazina en cuatro variedades de olivo*	99V-2	214
J. GONZÁLEZ NARANJO, A.F. MUÑOZ RODRÍGUEZ: *Polinización de las variedades de ciruelo japonés 'Autumn Giant' y 'Royal Diamond'*	99V-3	225

I. IGLESIAS, L. ASÍN, R. MONTSERRAT, P. VILARDELL, J. CARBÓ, J. BONANY:
Comportamiento de algunos patrones de peral en Lleida y Girona 99V-1 147

I. IGLESIAS, R. MONTSERRAT, J. CARBÓ, J. BONANY, M. CASALS:
Evaluación del comportamiento agronómico de algunos patrones para melocotonero en Lleida y Girona 99V-1 58

S. JIMÉNEZ, A. GARÍN, J.A. BETRÁN, Y. GOGORCENA, M.A. MORENO:
Influencia de diferentes patrones para cerezo en la calidad del fruto del cultivar 'Sunburst'. 99V-1 112

J.A. DE JUAN, A. MOYA, S. LÓPEZ, O. BOTELLA, H. LÓPEZ, R. MUÑOZ:
Influencia del tamaño del cormo y la densidad de plantación en el rendimiento y la calidad de la producción de cormos de Crocus sativus *L.* 99V-2 169

E. LESCAY BATISTA:
*Interacción genotipo/ambiente y estabilidad del rendimiento de bulbos en cuatro variedades de cebolla (*Allium cepa *L.)* 99V-3 262

R. MASSAI, F. LORETI, C. FEI:
Evaluación de nuevos patrones híbridos melocotonero x almendro 99V-1 27

F. MONTERO, J.A. DE JUAN, R. PARRA, E. SAJARDO, A. CUESTA, A. CRUZ, A. RAMIRO:
Valoración agronómica de la respuesta cuantitativa y cualitativa de la producción de Vitis vinifera *L. (cv. 'Airén') sometida a diferentes estrategias de programación de riegos* 99V-3 267

M.A. MORENO:
Mejora y selección de patrones frutales de hueso en la Estación Experimental de Aula Dei 99V-1 11

A. MOTISI, F. PERNICE, F. SOTTILE, T. CARUSO:
Gradientes del potencial hídrico del tronco de la nectarina 'Armking' en función del patrón 99V-1 68

C.O. BUDDE, C. LUCANGELI, G. POLENTA, R. MURRAY, L. ARROYO, G. VALENTINI:
*'*Ginart*', un cultivar de durazno de interés para la zona templado húmeda de la República Argentina* 99V-3 249

T.L. ROBINSON, R.L. ANDERSEN, S.A. HOYING:
Comportamiento de los patrones de cerezo 'Gisela' en el noreste de Estados Unidos 99V-1 101

A. DE ROSSI, L. RUFATO, E. KERSTEN, C. ZANCAN:
Comportamiento vegetativo del manzano 'Imperial Gala' con diferentes longitudes de intermediario de EM9 ..... 99V-1 140

G.H. VALENTINI, R.E. MURRAY, L.E. ARROYO:
Evaluación de los efectos de distintos portainjertos sobre características productivas de dos variedades de melocotón 99V-3 234

ITEA (2004), Vol. **100A N.° 1**, 5-16

UN ALGORITMO DE APRENDIZAJE AUTOMÁTICO PARA EVALUACIÓN DE LA CALIDAD A PARTIR DE CALIFICACIONES SUBJETIVAS

Jorge Díez[1,*], Juan José del Coz[**], Oscar Luaces[**], Félix Goyache[2,*], Jaime Alonso[**], Ana María Peña[***], Antonio Bahamonde[**]

* SERIDA-CENSYRA-Somió, c/ Camino de los Claveles 604, E-33203 Gijón (Asturias), España

** Centro de Inteligencia Artificial, Universidad de Oviedo de Gijón, Campus de Viesques, E-33271 Gijón (Asturias), España

*** Facultad de Ingeniería. Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Este trabajo presenta un algoritmo de aprendizaje de funciones para evaluar objetos. Se asume que los conjuntos de entrenamiento del algoritmo provienen de evaluaciones de expertos capaces de ordenar los objetos por su calidad, pero que fallan al evaluar esa calidad mediante un valor absoluto. La situación descrita es típica de la evaluación de la calidad de los productos alimenticios mediante paneles de expertos o consumidores. El algoritmo pretende cubrir la necesidad de la Industria Agroalimentaria de tecnologías eficaces de evaluación de la calidad sensorial para poder proveer a los mercados con productos de calidad uniforme. El algoritmo se basa en una variante de los mapas auto-organizados (SOM) de Kohonen denominada *growing neural gas*, que modifica el tamaño del mapa según las necesidades del problema. El funcionamiento del algoritmo se ha testado sobre problemas artificiales y de acceso público.

Palabras clave: Calidad sensorial, Panel, Redes neuronales, Aprendizaje de preferencias, Inteligencia Artificial.

SUMMARY

A MACHINE LEARNING ALGORITHM TO ASSESS QUALITY FROM SUBJECTIVE CLASSIFICATIONS

In this paper we present an algorithm for learning a function able to assess objects. Our approach assumes that the experts can provide a collection of pair-wise comparisons. However, they have difficulties in assigning a number to the qualities of the objects considered. This is a typical situation when dealing with food products, where it is very interesting to have repeatable, reliable mechanisms that are as objective as possible to evaluate quality in order to provide markets with products of a uniform qua-

1. Dirección actual en Centro de Inteligencia Artificial. Universidad de Oviedo de Gijón, Campus de Viesques, E-33271 Gijón (Asturias), España.

2. Autor al que debe dirigirse la correspondencia.

lity. The algorithm is implemented using a growing variant of Kohonen's Self-Organizing Maps (growing neural gas). Its performance has been tested with a variety of artificial or public data sets to demonstrate the capabilities of our approach.

Key words: Sensorial quality, Panel, Neural networks, Preference learning, Artificial Intelligence.

Introducción

La valoración de la calidad es una tarea compleja. Se pretende condensar todas las características deseables de un objeto en un solo número. Sin embargo, este número no refleja estrictamente un valor absoluto, sino la calidad relativa del objeto respecto de otros. En objetos de origen biológico; la calidad depende de un amplio conjunto de propiedades multisensoriales que son el resultado de su composición química, su estructura física, la interacción de ambas y la manera en que son percibidos por los sentidos humanos (MEILGAARD *et al.*, 1991). Por otra parte, la evaluación de la calidad de los productos alimenticios puede ser diferente cuando se realiza desde el punto de vista de los expertos o desde el de los consumidores. Los consumidores evalúan la calidad de los productos mediante percepciones de atributos simples a través de los sentidos primarios. En muchos casos no existen especificaciones detalladas del grado de calidad y los expertos pueden adoptar un perfil de calidad que excede considerablemente el requerido por el consumidor (BOLLEN *et al.*, 2002). Esto produce que, frecuentemente, las evaluaciones de calidad obtenidas mediante paneles de expertos o paneles de consumidores no sean comparables (BOLLEN *et al.*, 2002). Además la metodología de la evaluación de la calidad mediante paneles hace que los resultados no sean fiables. Experiencias previas con objetos de origen biológico (GOYACHE *et al.*, 2001a; 2001b; DÍEZ *et al.*, 2003) han demostrado que la complejidad de la tarea de valoración hace que la repetibilidad de las calificaciones humanas tienda a ser baja. Por lo tanto, la precisión de los datos de panel es baja a pesar de que los expertos han sido entrenados exhaustivamente y tienen una gran experiencia en la valoración (GOYACHE *et al.*, 2001a; KUSABS *et al.*, 1998). Los expertos y los consumidores son perfectamente capaces de escoger un objeto frente a otro. Sin embargo, suelen errar cuando se les pide que valoren un objeto con un número (MURRAY *et al.*, 2001). Existe un *efecto lote* que perjudica la valoración. En la práctica, los expertos puntúan diferentes objetos con un sentido relativo, comparando los objetos con los restantes del lote. Un objeto rodeado de otros peores, probablemente obtendrá una puntuación más alta que si se presenta rodeado de objetos mejores. Aunque se puede encontrar inaceptable la variabilidad individual en la puntuación absoluta obtenida al valorar la calidad de un objeto, la posición relativa obtenida en el lote es bastante constante.

La situación expuesta supone un grave problema para la industria agroalimentaria ya que le impide abastecer los mercados con productos de calidad normalizada para satisfacer las demandas del consumidor. Además, los operadores de los mercados alimentarios querrían conocer cuales son los principales parámetros físico-químicos que determinan la valoración de la calidad desde

el punto de vista del consumidor, para así mejorar la aceptación de sus productos.

La Inteligencia Artificial es la parte de las Ciencias de la Computación que trata de simular en una computadora comportamientos que en los seres humanos no dudarían en calificar de inteligentes. Uno de los procesos que se identifican con la inteligencia humana es la capacidad de aprendizaje; por esto, las técnicas que buscan que las máquinas aprendan, el aprendizaje automático (AA), es uno de los temas centrales de la IA. Los algoritmos de AA tratan de sintetizar conocimiento a partir de una fuente de información desorganizada. Estos algoritmos producen pues programas capaces de llevar a cabo tareas útiles para nosotros transcribiendo un conocimiento no estructurado pero que resulta relativamente accesible en un conjunto de instrucciones computables y, por tanto, en conocimiento organizado. Desde otro punto de vista se puede decir que el AA trata de clonar el comportamiento para que sea reproducible por una computadora. De forma operativa, el AA permite construir sistemas basados en el conocimiento a partir de indicaciones sobre qué tipo de respuestas serían esperables frente a un conjunto dado de entradas posibles. Por supuesto, se usará AA siempre que se pueda disponer a una batería de muestras de entradas/salidas que formarán los conjuntos de entrenamiento y en el supuesto de que no se conozca otra forma de construir directamente un sistema basado en el conocimiento. Una descripción detallada de los principios y técnicas de AA aplicables en el campo agroalimentario puede encontrarse en (GOYACHE *et al.*, 2001a). La manera sencilla de construir procedimientos automáticos para calcular la valoración de los objetos es hacerse con un conjunto de valoraciones representativas y aplicar un algoritmo de aprendizaje automático de funciones de regresión como Cubist (CUBIST, 2002), M5 (QUINLAN, 1992), M5' (WANG y WITTEN, 1997), SAFE (System to Acquire Functions from Examples) (QUEVEDO y BAHAMONDE, 1999) o BETS (Bets Examples in Training Sets) (DEL COZ *et al.*, 1999).

En este trabajo se presenta una nueva manera de aprender funciones capaces de valorar objetos partiendo de un conjunto de entrenamiento fiable. El conjunto de entrenamiento está formado por pares de descripciones de objetos, dados como atributos continuos, donde el primer objeto se considera peor que el segundo. El objetivo es una función capaz de cuantificar la calidad de los objetos de la manera más coherente que sea posible con las comparaciones o preferencias suministradas como conjunto de entrenamiento. La idea principal es considerar cada ejemplo de entrenamiento como una indicación de la dirección hacia donde se incrementa la calidad. Así, la diferencia vectorial de los objetos comparados se interpreta como una indicación del comportamiento local de la función de valoración. De esta manera, el algoritmo de aprendizaje crea grupos utilizando una versión de los mapas auto-organizados de Kohonen (SOM) (KOHONEN, 1995), que aumenta según las necesidades (FRITZKE, 1995) donde cada vector de referencia contiene una regla de valoración.

El algoritmo

Se ha desarrollado un algoritmo que aprende a clasificar a partir de un conjunto de entrenamiento formado por comparaciones entre objetos denominado LACE (cuadro 1). Para la descripción del funcionamiento de LACE se sigue a DÍEZ *et al.* (2002), añadiendo un tratamiento de las funciones que reduce su número considerablemente.

Descripción general

Se pretende utilizar como fuente de información un conjunto de preferencias o comparaciones entre objetos, que pueden tener como origen evaluaciones de paneles de calidad. La diferencia normalizada entre cada pareja de objetos comparados es, en sí misma, una función de valoración que podría utilizarse para valorar objetos similares a ellos. Sin embargo, este conjunto de reglas de valoración resulta demasiado numeroso y puede contener reglas erróneas, ya que los expertos han podido cometer errores de apreciación y equivocar su preferencia entre dos objetos. Es por ello que la metodología que se propone utiliza un algoritmo de agrupamiento (GNG; FRITZKE, 1995) que agrupa objetos de similares características para obtener una única función de valoración para todos los objetos del grupo. Los grupos se definen por un vector de referencia, de tal modo que un objeto pertenecerá a un determinado grupo si su distancia respecto del vector de referencia de dicho grupo es menor que su distancia respecto del vector de referencia de cualquier otro grupo.

Una vez definidos los grupos de objetos es posible calcular una función para cada grupo y, en un segundo paso, reducir el número de reglas que definen cada función. Para calcular la función de un grupo se calculan las diferencias normalizadas de todas las comparaciones posibles entre los objetos que le pertenecen y partiendo de la media de dichas diferencias como función inicial, ésta trata de optimizarse utilizando un método basado en el algoritmo OC1 (MURTHY *et al.*, 1994). Es posible que algunas de la reglas generadas por las comparaciones entre objetos de grupo no resulten esenciales para definir la función. Utilizando nuevamente el OC1 se comprueba la calidad de la función obtenida mediante la selección iterativa de pares de reglas. Esto permite reducir el número de reglas que definen cada función y mejorar su compresión y utilidad.

Finalmente, el algoritmo lleva a la misma escala la valoración de cada regla mediante el cálculo de un término independiente y un modificador de pendiente para cada función. Esto permite comparar objetos que pertenezcan a grupos diferentes.

Motivación Geométrica

Sean $\mathbf{u}$ y $\mathbf{v}$ vectores que describen las características de dos objetos evaluados por expertos, resultando que $\mathbf{u}$ es peor que $\mathbf{v}$; en símbolos $\mathbf{u} < \mathbf{v}$. Entonces, se busca una función f tal que $f(\mathbf{u}) < f(\mathbf{v})$. Si se asume que f tiene un comportamiento lineal existirá un vector $\mathbf{w}$ tal que

$$f_w(\mathbf{v}-\mathbf{u}) = \mathbf{u}\cdot\mathbf{w} < \mathbf{v}\cdot\mathbf{w} = f_w(\mathbf{v}) \quad (1)$$

donde para dos vectores $\mathbf{z}$ y $\mathbf{t}$, su producto escalar se representa como $\mathbf{z}\cdot\mathbf{t}$.

Desde el punto de vista geométrico (figura 1), la función f_w representa la distancia al hiperplano $\mathbf{u}\cdot\mathbf{w} = 0$; es decir, el hiperplano de vectores perpendiculares a $\mathbf{w}$. Si se busca un $\mathbf{w}$ considerando únicamente vectores normalizados (es decir $\|\mathbf{w}\| = 1$), la diferencia más amplia entre las valoraciones de $f_w(\mathbf{u})$ y $f_w(\mathbf{v})$ se alcanza cuando $\mathbf{w}$ es el vector normalizado en la dirección de $(\mathbf{v}-\mathbf{u})$. De hecho,

$$f_w(\mathbf{v}-\mathbf{u}) = (\mathbf{u}\cdot\mathbf{w})\cdot\mathbf{w} \le \|\mathbf{v}-\mathbf{u}\|\cdot\|\mathbf{w}\| = \|\mathbf{v}-\mathbf{u}\| =$$

$$= \underbrace{\left(\frac{(\mathbf{v}-\mathbf{u})}{\|\mathbf{v}-\mathbf{u}\|}\cdot\frac{(\mathbf{v}-\mathbf{u})}{\|\mathbf{v}-\mathbf{u}\|}\right)}_{1}\cdot\|\mathbf{v}-\mathbf{u}\| =$$

$$= (\mathbf{v}-\mathbf{u})\cdot\frac{(\mathbf{v}-\mathbf{u})}{\|\mathbf{v}-\mathbf{u}\|} = f_{\frac{(\mathbf{v}-\mathbf{u})}{\|\mathbf{v}-\mathbf{u}\|}}(\mathbf{v}-\mathbf{u}) \quad (2)$$

En general, se parte de una familia de comparaciones

$$\{\mathbf{u}_i < \mathbf{v}_i \ \forall i = 1,\ldots,n\} \quad (3)$$

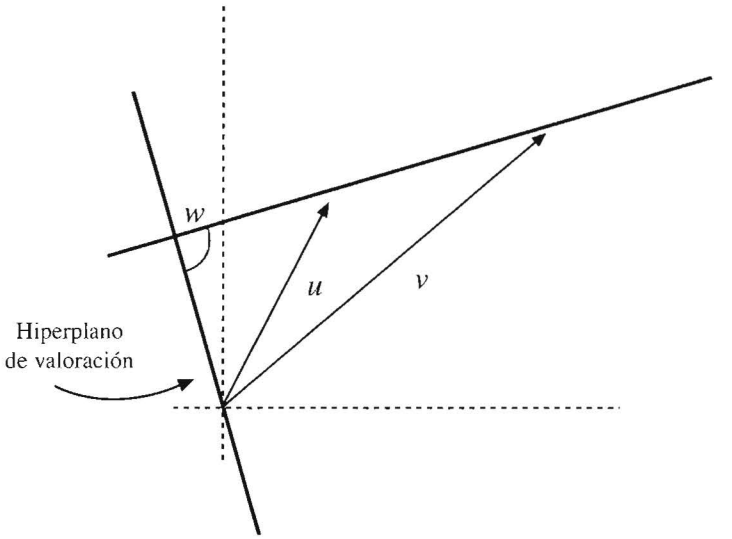


Figura 1. Dados dos objetos representados por los vectores **u** y **v**, si **u** es peor que **v**, el vector normalizado en la dirección de la diferencia, $w = v - u / \|v - u\|$, define un hiperplano. La distancia desde el hiperplano a los objetos es una función de valoración local válida.

*Figure 1. Given tow objects represented by vectors **u** and **v**, if **u** is worse than **v**, the normal vector in direction of the difference, $w = v - u / \|v - u\|$, defines a hyperplane. The distance from the hyperplane to the objects is a suitable local assessment function.*

y se quiere inducir una función f, con un comportamiento lineal en su ámbito local que, se espera, sea capaz de distinguir el mayor número de veces posible que $\mathbf{u}_i$, es peor que $\mathbf{v}_i$, porque $f(\mathbf{u}_i) < f(\mathbf{v}_i)$. El algoritmo que se propone, utiliza la intuición geométrica introducida en esta sección como punto de partida para la búsqueda de la función f. Por tanto, la tarea principal del algoritmo será combinar las pautas locales sugeridas por cada comparación suministrada en el conjunto de entrenamiento.

Agrupamiento de funciones parciales

El conjunto de entrenamiento, compuesto de comparaciones (3), da lugar a un conjunto de $2 \cdot n$ pares de vectores:

$$\left\{\left(\frac{\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i}{\|\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i\|}, \mathbf{u}_i\right) \forall i = 1,\ldots,n\right\} \cup \left\{\left(\frac{\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i}{\|\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i\|}, \mathbf{v}_i\right) \forall i = 1,\ldots,n\right\} \quad (4)$$

La información proporcionada por cada pareja $(\mathbf{w}_i, \mathbf{u}_i)$, debe entenderse como una sugerencia de la regla de calificación numérica (figura 2) que indica que la valoración de un vector **z** es $f_{w_i}(\mathbf{z})$, si **z** se encuentra en las proximidades de $\mathbf{u}_i$, entendiendo que **z** se encuentra en las proximidades de $\mathbf{u}_i$ si la distancia de **z** respecto a $\mathbf{u}_i$ es la menor distancia que mantiene **z** respecto de cualquier otra $\mathbf{u}_j$ contenida en los pares de vectores.

Dado que $f(\mathbf{z}) = \mathbf{z} \cdot \mathbf{w}$, se identificará **w** como la función lineal $f_{\mathbf{w}}$. De la misma mane-

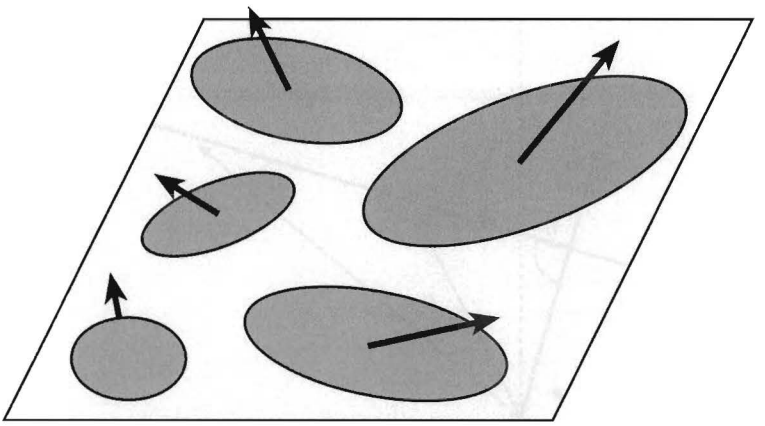


Figura 2. Los grupos de funciones parciales representan, en cada nodo, un entorno en el espacio de atributos de los objetos a ser valorados (coloreados en oscuro en la figura) y un vector apuntando en la dirección en la que se medirán las valoraciones. En otras palabras, el mapa representa un conjunto de reglas de valoración que se aplicarán mediante el criterio de la mínima distancia.

Figure 2. The clusters of partial functions represent, in each node, an environment in the attribute space of the objects to be assessed (drawn dark in the picture) and a vector pointing to the direction to measure the assessments. In other words, the map represents a set of assessment functions to be applied by means of the nearest-distance criterion.

ra, se hará referencia a **u** como las condiciones de la regla. Para abreviar, se escribirá $\mathbf{w} \leftarrow \mathbf{u}$.

En general, se intenta conseguir una función de valoración f definida por partes en todo el espacio de atributos. En otras palabras, la función de valoración vendrá dada por una lista de reglas de calificación numérica

$$(\mathbf{w}_1 \leftarrow \mathbf{u}_1),(\mathbf{w}_2 \leftarrow \mathbf{u}_2),...,(\mathbf{w}_m \leftarrow \mathbf{u}_m) \quad (5)$$

que deben ser evaluadas mediante el criterio de mínima distancia. Matemáticamente, la función f que resulte finalmente inducida trabajará como se muestra para un vector arbitrario **z**

$$f(\mathbf{z}) = \mathbf{w}_k \cdot \mathbf{z} \quad \text{si} \quad \|\mathbf{z} - \mathbf{u}_k\| \leq \|\mathbf{z} - \mathbf{u}\|, \forall j = 1,...,m \quad (6)$$

Una primera tentativa para definir la lista de reglas de valoración (5) es considerar el conjunto de pares al completo (definido en (4)), pero este conjunto de reglas debe mejorarse: es demasiado numeroso y puede contener mucho ruido. Por otro lado, la idea del algoritmo de aprendizaje propuesto (cuadro 1) es unir condiciones similares **u** y después adjuntar una función **w** de acuerdo a las funciones de los pares que han sido unidos en una misma zona (figura 2). Con este fin, se utiliza una versión de los mapas auto-organizados de Kohonen (SOM) (KOHONEN, 1995) que aumenta según las necesidades: *growing neural gas* (GNG) de Fritke (FRITKE, 1995). Este mapa tiene la ventaja de que no necesita que le sean definidos los parámetros a priori como ocurre en el SOM, donde hay que definir la dimensión del mapa y el radio que se va a utilizar para la adaptación.

El algoritmo GNG comienza con un grafo de nodos (vectores de referencia), $\mathbf{c}_1$ y $\mathbf{c}_2$, que representan dos puntos en el dominio de la función de valoración. En cada paso, cada

Cuadro 1. Algoritmo que aprende a clasificar a partir de comparaciones entre objetos (LACE)

Table 1. Algorithm that learn to assess from pair-wise comparison examples (LACE)

Función LACE $(\{\mathbf{u}_i < \mathbf{v}_i : i = 1,...,n\})$: Reglas de valoración

$$E = \left\{\left(\frac{\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i}{\|\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i\|}, \mathbf{u}_i\right) : i = 1,..,n\right\} \cup \left\{\left(\frac{\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i}{\|\mathbf{v}_i - \mathbf{u}_i\|}, \mathbf{v}_i\right) : i = 1,...,n\right\};$$

// para tener valores comparables en [0,1]...
Normalizar cada componente de las condiciones $\mathbf{u}_i$ y $\mathbf{v}_i$ contenidas en E;
// hacer grupos con las condiciones de los ejemplos de E mediante el GNG
GNG (Condiciones(E));
Sean $(\mathbf{w}_1, \mathbf{c}_1)$, $(\mathbf{w}_2, \mathbf{c}_2)$,...., $(\mathbf{w}_m, \mathbf{c}_m)$ los nodos del grafo, donde $\mathbf{w}_i = \frac{1}{|CL_i|}\left(\sum_{j=1}^{|CL_i|} \frac{(\mathbf{v}_j - \mathbf{u}_j)}{\|\mathbf{v}_j - \mathbf{u}_j\|}\right)$
para cada nodo $(\mathbf{w}_i, \mathbf{c}_i)$, del grafo **hacer**

$\mathbf{w}_i = \mathrm{OC1}(CL_i)$

fin para
Unir grupos que puedan compartir una misma función;
Mejorar las pendientes relativas y los términos independientes de las reglas de valoración;
Retorna Reglas de valoración;

iteración, se añade un nuevo nodo tratando de cubrir mejor el espacio. El mapa dejará de crecer y adaptarse cuando alguno de los nodos no clasifique a ningún ejemplo, es decir, cuando exista un nodo que no sea el más cercano a ninguno de los ejemplos que participan en las comparaciones.

Una vez que se tiene un número de grupos representados a través de los vectores de referencia $\mathbf{c}_1, \mathbf{c}_2, \ldots, \mathbf{c}_m$, se considera el conjunto de comparaciones asociadas al vector de referencia $\mathbf{c}_i$, $CL_i = \{\mathbf{u} < \mathbf{v} : (\mathbf{c}_i.\mathbf{u} \le \mathbf{c}_j.\mathbf{u}\ \forall j = 1,K,m) \wedge (\mathbf{c}_i.\mathbf{v} \le \mathbf{c}_j.\mathbf{v}\ \forall j = 1.K,m)\}$, estando compuesto este conjunto por aquellas comparaciones en las que ambos objetos de la comparación tienen como vector de referencia más cercano a $\mathbf{c}_i$. Estas comparaciones se utilizarán para calcular una aproximación lineal de la función de valoración en los alrededores de $\mathbf{c}_i$.

El procedimiento seguido para encontrar una función lineal para el grupo $\mathbf{c}_i$ con coeficientes $\mathbf{w}_i = (a_1,...., a_d)$ se toma del algoritmo OC1 (MURTHY *et al.*, 1994) modificándose ligeramente para este propósito. Lo que se busca es un vector $\mathbf{w}_i$ tal que haga cierto que $(\mathbf{v} - \mathbf{u}) > 0$ para el mayor número de comparaciones posible de CL_i. Se puede empezar con un $\mathbf{w}_i$ que sea la media de las diferencias normalizadas de las comparaciones contenidas en CL_i.

$$\mathbf{w}_i = (a_1,...,a_d) = \frac{1}{|CL_i|}\left(\sum_{j=1}^{|CL_i|} \frac{(\mathbf{v}_j - \mathbf{u}_j)}{\|\mathbf{v}_j - \mathbf{u}_j\|}\right) \quad (7)$$

Ahora, se tratan de mejorar los coeficientes a_m de uno en uno. Una observación importante es que dada una diferencia normalizada $\frac{(\mathbf{v} - \mathbf{u})}{\|\mathbf{v} - \mathbf{u}\|} = (x_1,..., x_d)$, se considera que la comparación que ha dado lugar a esa diferencia está correctamente clasificada, es decir, la función calculada otorga mayor valoración a $\mathbf{v}$ que a $\mathbf{u}$, si el producto escalar de la diferencia por la función es mayor que 0:

$$\mathbf{w}\cdot(\mathbf{v}-\mathbf{u})=\sum_{i=1}^{d}(a_i x_i)>0 \quad (8)$$

De manera equivalente, dicha comparación se clasifica correctamente si:

$$a_m > \frac{-(a_1 x_1 + a_2 x_2 + \ldots + a_{m-1} x_{m-1} + a_{m+1} x_{m+1} + \ldots + a_d x_d)}{x_m} = U \quad (9)$$

o por el contrario $a_m < U$ cuando $x_m < 0$. Cuando $x_m = 0$, el valor del coeficiente a_m no importa. Así, para fijar los valores de todos los coeficientes, cada ecuación (9) representa una restricción sobre el valor de a_m. Partiendo de todos los valores de U ordenados, se considera como valor posible para a_m, el valor que satisface el mayor número de restricciones. Siguiendo el procedimiento de OC1, se repite el ajuste de coeficientes mientras se produzca una mejora.

De esta manera, para cada grupo tenemos una función de valoración local válida en su ámbito de aplicación. Sin embargo, es posible que algunos de esos grupos puedan compartir una misma función. Si se toman los dos grupos más cercanos entre sí y se calcula la función de valoración que mejor se ajusta de manera local a las diferencias normalizadas de ambos grupos, se puede estimar si la capacidad de otorgar una valoración correcta aumenta al tener una función para cada uno de los dos grupos o si con una única función para ambos es suficiente. Repitiendo este proceso a todos los grupos por proximidad, se logra reducir de forma notable el número de funciones necesarias.

En cualquier caso, las reglas de valoración encontradas necesitan un proceso de mejora final. Se parte de que $\mathbf{w} \leftarrow \mathbf{c}$, que por la forma en que ha sido calculada, clasifica correctamente las comparaciones en las que ambos objetos comparten como vector de referencia más cercano a **c**. Pero **w** pude errar cuando uno de los dos objetos va a ser clasificado por otra regla, $\mathbf{w}' \leftarrow \mathbf{c}'$ Para solventar estas situaciones se buscan *modificadores de pendientes* (*a*) y *términos independientes* (*b*) adecuados, de tal manera que la función de la regla de valoración se verá modificada resultando finalmente una regla del tipo:

$$a(\mathbf{w}\cdot\mathbf{z})+b \leftarrow \mathbf{c} \quad (10)$$

donde **z** es un objeto a valorar.

El procedimiento para encontrar *a* y *b* para cada regla de valoración es casi el mismo que se ha descrito para ajustar los coeficientes de a_m de cada **w**. La única diferencia es que ahora se consideran comparaciones donde sólo uno de los objetos se encuentra cerca de la regla que va a ser mejorada.

Resultados experimentales

Con el fin de comprobar la validez del algoritmo se han realizado varios experimentos utilizando problemas artificiales o bien problemas públicamente disponibles (BLAKE y MERZ, 1998). Con el primer grupo de experimentos se pretende ver el comportamiento del algoritmo con problemas de los que se conocen a priori los resultados deseables.

Un problema simple es considerar objetos descritos por un único atributo continuo x con valores en el rango [0,1], y teniendo como función de valoración *verdadera* la parábola (figura 3a). Para construir el conjunto de entrenamiento de comparaciones E, se han generado 3000 pares (x_1, x_2) con valores en el rango [0,1], y se ha añadido el par (x_1, x_2) en E cuando $g(x_1)>g(x_2)$. En el otro caso se ha añadido a E el par (x_2, x_1). El algo-

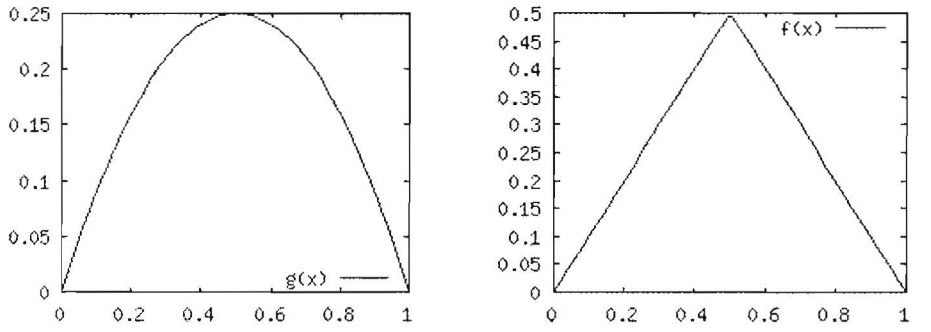


Figura 3. Los objetos a clasificar se encuentran en el rango [0,1]. (a) La clasificación correcta se describe mediante la función g(x) = -*x*(*x*-1). (b) Función aprendida por el algoritmo. Todas las comparaciones fueron ordenadas correctamente por la función (b).

Figure 3. The objects to classify are in the range [0,1]. (a) The correct classification is describe by the function g(x) = -x(x-1). (b) The learned function by the algorithm. All comparisons were correctly ordered by the function (b).

ritmo aprendió para el conjunto de entrenamiento E la función f dibujada en la figura 3b. Aunque los valores de f (*x*) y g(*x*) son bastante diferentes, los valores relativos son prácticamente los mismos. De hecho, probándolo contra un conjunto de comparaciones de test (que ha sido construido de la misma manera que E), todos los pares fueron correctamente ordenados por la función f.

Se llevó a cabo un segundo bloque de experimentos (cuadro 2) con objetos descritos por dos atributos continuos: *x e y*. Se generaron aleatoriamente pares de objetos que fueron pasados al conjunto de comparaciones de entrenamiento colocando primero el objeto del par que se considera peor de acuerdo con la correspondiente función de valoración. De la misma manera (cambiando la semilla de generación de números aleatorios) se generaron también conjuntos de test. Los conjuntos generados contienen 3000 pares. El error que se muestra en la tabla 2 se corresponde con el porcentaje de pares mal ordenados por la función de valoración aprendida por el algoritmo. Se aprecia un porcentaje de error bastante pequeño. El problema en el que una parte del domino se valora con la suma y la otra parte con la resta es un problema más complicado, ya que las funciones son planos ortogonales.

Finalmente, se utilizaron cuatro problemas públicamente disponibles de categoría continua en un intento por tratar con problemas reales. Los experimentos realizados fueron validaciones cruzadas, con 10 particiones y 5 repeticiones, lo que da lugar a 50 pruebas por experimento. En cada prueba, por cada ejemplo del conjunto de entrenamiento, se seleccionaron aleatoriamente otros 10 ejemplos contra los que compararlo: así resultaron 10 comparaciones por cada ejemplo del conjunto. Esta misma operación se realizó en el conjunto de test con el fin de extraer un conjunto de comparaciones con las que validar lo aprendido. Para comparar los resultados de *LACE*, se utilizaron dos conocidos sistemas de aprendizaje de funciones: M5' (QUINLAN, 1992; WANG y

Cuadro 2. Los experimentos llevados a cabo se definieron con funciones compuestas por dos subfunciones con dominios separados. En los dos primeros casos los objetos utilizados en el conjunto de entrenamiento fueron vectores contenidos en [0,999] × [0,999]. En los últimos dos casos los vectores están contenidos en [200,299] × [0,999] y en [700,799] × [0,999]. El conjunto de entrenamiento y el de test contienen 3000 comparaciones

Table 2. Experiments carried out with goal functions defined by two linear subfunctions with separate domains. The original objects to be assessed were vectors in the rectangles [0, 999] × [0,999] in the first two rows, and for the other two [200,299] × [0,999], and [700,799] × [0,999]. Both training and test sets have 3000 elements

Función objetivo	Porcentaje de error
$f(x,y)=\begin{cases} x+10y & x\le 500 \\ 10x+y & x>500 \end{cases}$	2,23
$f(x,y)=\begin{cases} x+y & x\le 500 \\ x-y & x>500 \end{cases}$	8,00
$f(x,y)=\begin{cases} x+10y & x\in[200,299] \\ 10x+y & x\in[700,799] \end{cases}$	0,47
$f(x,y)=\begin{cases} x+y & x\in[200,299] \\ x-y & x\in[700,799] \end{cases}$	1,00

WITTEN, 1997) y Cubist (CUBIST, 2002). Se entrenó con M5' y con Cubist utilizando todo el problema, esto es, considerando la descripción de los ejemplos y la categoría continua asociada a cada uno de ellos. Para evaluar lo que estos sistemas aprendieron, se compararon las valoraciones propuestas para cada objeto de las comparaciones, comprobando así si el orden propuesto era correcto. Los resultados pueden verse en el cuadro 3.

Discusión

Los resultados obtenidos tanto en el aprendizaje de problemas artificiales como en el caso de problemas reales públicamente disponibles demuestran un buen comportamiento de Lace. Los problemas artificiales (cuadro 2) diseñados deberían, *a priori*, suponer un problema fácil de resolver por nuestro algoritmo y así sucede. Los errores obtenidos son bajos, especialmente cuando las regiones con diferente función de valoración están separadas. En la prueba comparativa que se muestra en el cuadro 3, el algoritmo LACE se encuentra penalizado respecto de los otros algoritmos utilizados. La razón es que tanto M5' como Cubist tienen acceso a la valoración continua de todos los ejemplos de entrenamiento, mientras que *LACE* solamente tiene acceso a pares en los que se sabe que hay diferencias, pero sin conocer la cuantía de dichas diferencias. Como ya se ha comentado en la introducción, en algunos problemas reales no se conoce la valoración numérica de los objetos y, por tanto, no se podrían utilizar los algoritmos que aprenden funciones como M5' o CUBIST. A pesar de ello, LACE obtiene resultados similares a los ofrecidos por CUBIST y M5'.

TESAURO (1989), aborda un problema similar al mostrado en el presente trabajo. El algo-

Cuadro 3. Porcentajes de error de *LACE* frente a problemas públicamente disponibles y frente al problema de la parábola descrito anteriormente. CPU y Body Fat fueron obtenidos de la página web de CUBIST, (2002); Boston Housing y Liver Disorders pueden encontrarse en el almacén de la UCI (BLAKE y MERZ, 1998). La comparativa no es justa para LACE porque CUBIST y M5' tienen acceso a las valoraciones otorgadas por los expertos

Table 3. Error scores of our learner in publicly available regression datasets in addition to the parabola dataset described above. The CPU, Body fat were dowloaded from CUBIST URL, while Boston housing, and Liver disorders can be found at UCI Repositoty (BLAKE y MERZ, 1998). The comparative is not fair for LACE *because CUBIST and M5' have access to the assessments carry out by the experts*

Problema	CUBIST	M5'	LACE
CPU	14,27	14,28	14,61
Boston Housing	12,05	11,96	13,42
Body Fat	18,04	18,69	18,92
Liver Disorders	39,11	38,23	41,78
Media	20,87	20,79	22,18

ritmo propuesto por TESAURO (1989) busca funciones capaces de seleccionar la alternativa preferible en su famoso jugador artificial de *Backgammon*. Propone construir una red neuronal simétrica formada por dos subredes separadas, una para cada objeto de la comparación. Además, fuerza a ambas subredes a tener los mismos pesos (solo multiplicada por -1 en la capa de salida). Sin embargo, esta restricción en el mecanismo de entrenamiento únicamente es válida en redes de tipo perceptrón, por lo menos en su campo de aplicación. Otros estudios basados en el perceptrón se describen en UTGOFF y CLOUSE (1991) y en UTGOFF y SAXENA (1987).

Conclusiones

En este documento, se presenta un nuevo método de obtener funciones de valoración de objetos. Este método permite hacer uso de un tipo de conocimiento capaz de ordenar satisfactoriamente un conjunto de objetos del mejor al peor, pero que falla en el cálculo del grado de calidad de un objeto con un número absoluto. Esta aproximación es aplicable sobre clasificaciones realizadas de una manera absoluta que se ven fuertemente afectadas por un *efecto lote*. Ese efecto lote hace que la puntuación obtenida en la clasificación no signifique estrictamente un valor sino un orden de preferencia de unos objetos de un lote respecto de los otros. Nuestra metodología es claramente aplicable a objetos de tipo biológico y especialmente en la industria agroalimentaria (GOYACHE *et al.*, 2001a), en que las reglas para decidir el grado de la calidad de un producto normalmente no están bien definidas, pero el orden de los productos, en cuanto a calidad, es bastante constante y aceptado por parte de los consumidores y expertos.

Bibliografía

BLAKE C.L., MERZ, C.J., 1998. UCI repository of machine learning databases. [http://www.ics.uci.edu/~mlearn/MLRepository.html]. University of California, Irvine, Dept. of Information and Computer Sciences.

BOLLEN A.F., KUSABS N.J., HOLMES G., HALL M.A., 2002. Comparison of consumer and producer perceptions of mushroom quality. En S.E. Prussia W.J. Florkowski y R.L. Shewfelt, editores, *Integrated View of Fruit and Vegetable Quality International Multidisciplinary Conference*, Georgia. 303-311.

CUBIST, 2002. Release 1.09, [http://www.rulequest.com/cubist-info.html].

DEL COZ J.J., LUACES O., QUEVEDO J.R., ALONSO J., RANILLA J., BAHAMONDE A., 1999. Self-organizing cases to find paradigms. *Lecture notes in computer sciences*. 1606, 527-536.

DÍEZ J., DEL COZ J.J., LUACES O., GOYACHE F., PEÑA A.M., BAHAMONDE A., 2002. Learning to assess from pair-wise comparisons. VIII Conferencia Iberoamericana de Inteligencia Artificial (IBERMIA). *Lecture Notes in Artificial Intelligence*. 2527, 481-490. Springer-Verlag.

DÍEZ J., BAHAMONDE A., ALONSO J., LÓPEZ S., DEL COZ J.J., QUEVEDO J.R., RANILLA J., LUACES O., ÁLVAREZ I., ROYO L.J., GOYACHE F., 2003. Artificial Intelligence techniques point out differences in classification performance between light and standard bovine carcasses. *Meat Science*, 63:249-258.

FRITZKE B., 1995. A growing neural gas network learns topologies. En G. TESAURO, D.S. TOURETZKY y T.K. LEEN, editores, *Advances in Neural Information Processing Systems* 7, páginas. MIT Press, Cambridge MA. 625-632.

GOYACHE F., BAHAMONDE A., ALONSO J., LÓPEZ S., DEL COZ J.J., QUEVEDO J.R., RANILLA J., LUACES O., ÁLVAREZ I., ROYO L.J., DÍEZ J., 2001a. The usefulness of artificial intelligence techniques to assess subjetive quality of products in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 12:370-381.

GOYACHE F., DEL COZ J.J., QUEVEDO J.R., LÓPEZ S., ALONSO J., RANILLA J., LUACES O., ÁLVAREZ I., BAHAMONDE A., 2001b. Using artificial intelligence to design and implement a morphological assessment system in beef cattle. *Animal Science*. 73, 49-60.

KOHONEN T, 1995. Self-organizing maps. *Springer Series of Information Science*.

KUSABS N., BOLLEN F., TRIGG L., HOLMES G., INGLIS S., 1998. Objective measurement of mushroom quality. En *New Zealand Institute of Agricultural Science and the New Zealand Society for Horticultural Science Annual Convention*. New Zealand, 51.

QUEVEDO J.R., BAHAMONDE A., 1999. Aprendizaje de funciones usando inducción sobre clasificaciones discretas. En *CAEPIA' 99-TTIA'99 VIII Conferencia de la Asociación Española para la Inteligencia Artificial – III Jornadas de Transferencia Tecnológica de Inteligencia Artificial*, páginas 64-71.

QUINLAN J.R., 1992. Learning with continuous clases. En *Procedings fifth Australian Joint Conference on Artificial Intelligence*. World Scientific, Singapore. 343-348.

MEILGAARD D., CIVILLE G.V., CARR B.T., 1991. Sensory evaluation techniques. *Boca Raton CRC Press*.

MURRAY J.M., DELAHUNTY C.M., BAXTER I.A., 2001. Descriptive Sensory Analysis: Past, Present and Future. *Food Research International*. 34:461-471

MURTHY S.K., KASIF S., SALZBERG S., 1994. A system for induction of oblique decision trees. *Journal of Artificial Intelligence Research*. 2, 1-32.

TESAURO G., 1989. Connectionist learning of expert preferences by comparison training. *Advances in Neural Information Processing*. 99-106.

UTGOFF P.E., CLOUSE J.A., 1991. Two kinds of training information for evaluation function learning. En *Ninth National Conference on Artificial Intelligence*, páginas 596-600.

UTGOFF P.E., SAXENA S., 1987. Learning a preference predicate. En *Fourth International Workshop on Machine Learning*. 115-121.

WANG Y., WITTEN I.H., 1997. Induction of model trees for predicting continuous classes. En *European Conference on Machine Learning*. 128-137.

(Aceptado para publicación el 22 de enero de 2004).

ITEA (2004), Vol. **100A N.° 1**, 17-29

REVISIÓN SOBRE LA HERENCIA DEL COLOR DE LA CAPA EN GANADO BOVINO

L.J. Royo, I. Fernández, I. Álvarez, A. Rodríguez, F. Goyache

SERIDA-CENSYRA, c/ Camino de los Claveles 604,
33203 Gijón (Asturias), España
E-mail: fgoyache@serida.org

RESUMEN

El interés por el color de la capa en ganado bovino reside en su importancia para la formación y diferenciación de las razas y en la posible utilización de los genes responsables de la variación del color en estudios de diversidad. Se revisan los conocimientos existentes en relación con las bases genéticas de la determinación del color de la capa en ganado bovino respecto de los genes Extensión (Mc1r) y Agouti (ASIP) y de los patrones de manchado respecto de los genes KIT y MGF.

Palabras clave: Extension, Mc1r, Agouti, KIT, Ruano, Berrendo.

SUMMARY
INHERITANCE OF COAT COLOUR IN CATTLE. A REVIEW

Coat colour affects differentiation of populations into breeds. Additionally some authors proposed the use of the genes responsible of coat colour variation in diversity studies. In this work we review the knowledge on genes affecting coat colour (loci Extension or Mc1r and Agouti or ASIP) and spotting patterns (KIT and MGF).

Key words: Extension, Mc1r, Agouti, KIT, Roan, spotted.

Introducción

La variación del color de la capa en el ganado bovino, así como los patrones de manchado, ha suscitado un continuo interés de ganaderos y técnicos. La capa ha sido un elemento fundamental en la creación y diferenciación de las razas, afectando a la variabilidad genética de las poblaciones. En este sentido, diversos autores proponen la utilización de los genes responsables de la variación del color como marcadores de Tipo I en proyectos encaminados a la conservación de recursos genéticos animales en ganado bovino (KLUNGLAND *et al.*, 2000), y en la formación de grandes grupos poblacionales a partir de las razas bovinas existentes (ROUZAOUD *et al.*, 2000). El criterio de clasificar animales domésticos y razas por el color de la capa se mantiene vigente hoy en día y organismos internacionales como la FAO (http://www.tihohannover.de/einricht/zucht/eaap/sim_grp.htm) lo utilizan para definir 10 grandes grupos de razas bovinas: berrendo en negro, negro, berrendo en rojo, rojo, castaño, gris, azul, rubio, blanco y multicolor. Asimismo el estudio del color de la capa presenta interés científico en los casos en que pueda ser el resultado de importantes procesos adaptativos a medios difíciles (FINCH y WESTERN, 1977).

Por otra parte, el control de las variaciones del color de la capa presenta interés económico por diversas razones (OLSON, 1998): a) los animales de cebo que presentan determinados colores se sobrevaloran o penalizan en el precio de venta en ciertos mercados, sin tener en cuenta su raza o cruce; b) la presencia de manchas blancas en animales de razas de capa compacta impide su inclusión en los Libros Genealógicos correspondientes; c) puede afectar a la adaptabilidad productiva en condiciones de fuerte insolación como en el caso del porcentaje de blanco en ganado frisón respecto de la producción de leche (BECERRIL *et al.*, 1994); d) el color de la capa puede estar asociado a procesos patológicos como el *cancer eye* en ganado Hereford o la *white heifer disease* en raza Blanco Azul Belga (CHARLIER *et al.*, 1996).

OLSON (1998) revisa las mutaciones responsables del color y el berrendo en ganado bovino. En el primer caso, los *loci* de mayor importancia son el *Extension* (**E**) y el *Agouti* (**A**) (ADALSTEISSON *et al.*, 1995). El primero sería responsable del color negro-castaño-rojo y el segundo el responsable de la distribución de cada uno de esos colores en diferentes zonas de la piel del animal, especialmente en el vientre y bragadas. Además, señala la existencia del *locus Brindle* (**Br**) como responsable del fenotipo atigrado o rayón, del *locus Dun* (**Dn**) responsable del fenotipo de tipo podólico y dos *loci* responsables de la dilución del color muy presentes en las razas Charolesa (**Dc**) y Simmental (**Ds**). Como responsables del fenotipo berrendo señala el *locus Spotting* (**S**) (manchado) responsable del manchado típico de la mayor parte de las razas como Hereford, Pinzgauer o Holstein, el *Ruano* (**R**) propio de las razas Shorthorn y Blanco Azul Belga, los *loci Belting* (**Bt**), *Blaze* (**Bl**) y *Colour-sided* (**Cs**) responsables de los fenotipos *fajado* de la raza Galloway, de la estrella en la frente y del manchado irregular de las razas Berrenda en Negro, Berrendo en Colorado o White Park, respectivamente. También señala el *locus Brockling* (**Bc**) responsable de la presencia de pigmentación en las manchas blancas producidas por otras mutaciones. Sin embargo, la información disponible es, en general, escasa e imprecisa, y OLSON reconoce que algunas de las mutaciones señaladas podrían ser alelos de los *loci Extension* (**Dc**), *Agouti* (**Dn**) o *Ruano* (**Bc**).

Algunos autores no descartan que los colores de la capa, básicamente determinados por genes mayores, puedan estar parcialmente controlados por genes modificadores de efecto cuantitativo que regulan la proporción del color blanco en animales berrendos (BECERRIL *et al.*, 1994) o la proporción del color negro en animales de capa castaña (OLSON, 1998).

Bases de la pigmentación del ganado

La base del color en los mamíferos radica en la síntesis y distribución de una proteína, la melanina, en la piel, pelo y mucosas (SPONENBERG, 1997). La melanina se sintetiza en unas organelas de los melanocitos denominadas melanosomas, que se transfieren por exocitosis a los keratinocitos de la piel y a los bulbos pilosos donde se determinan los diferentes patrones de color. Existen dos clases de melanina: *eumelanina*, responsable de la coloración negra/castaña, y la *phaeomelanina*, responsable de la coloración roja/amarilla. La coloración de los mamíferos está determinada por la distribución de estos dos pigmentos, y la cantidad relativa de cada uno de ellos está controlada principalmente por dos *loci*: el *locus Extension* y el *locus Agouti* (HEARING y TSUKAMOTO, 1991; JACKSON, 1993). El *locus Exten-*

sion es el gen que codifica para el receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos (MSHR, Mc1r). A este receptor pueden unirse dos tipos de ligandos: la hormona estimuladora de melanocitos (MSH) o la proteína antagonista, el producto del llamado *locus Agouti*. En cualquier caso, no es descartable la existencia de otros genes con efecto epistático sobre el color de la capa. En concreto, el gen de la tirosinasa 1 (TYRP1), conocido como *brown locus*, ha sido señalado como responsable de la dilución del color de la capa y de los fenotipos blancos con zonas coloreadas (CAMACHO-HÜBNER y BEERMANN, 2000; SCHMITZ *et al.*, 2001), aunque en principio no ha sido encontrada una gran diversidad alélica para este *locus*, al menos en buen número de razas bovinas europeas (MAUDET, 2002). Sin embargo, recientemente se ha identificado al gen TYRP1 como el gen Dun o brown locus, responsable de la decoloración de capas eumelánicas en bovino, aunque sólo se ha encontrado presente en la raza Dexter (BERRYERE *et al.*, 2003).

Los melanocitos derivan de la cresta neural en fases embrionarias tempranas, y deben migrar a través del embrión durante su desarrollo. El patrón de migración está controlado genéticamente (HEARING y TSUKAMOTO, 1991), y da como resultado diferentes patrones por distribuciones no uniformes de los melanocitos en la piel. La existencia de diferentes zonas del cuerpo del animal que no cuentan con melanocitos provoca ausencia de coloración y la existencia, por tanto, de manchas blancas. Los estudios realizados sobre la determinación genética del manchado en ganado bovino están menos avanzados que los relativos a los genes responsables de la producción de la melanina, por la dificultad de realizar un correcto fenotipado de los animales que permita diferenciar patrones de herencia. Sin embargo, a partir de estudios realizados en los genomas humano y de ratón, puede concluirse que en la determinación de las capas berrendas deben intervenir básicamente dos genes que controlan la migración de los melanocitos: el *locus* KIT (receptor tirosinkinasa) (GEISLER *et al.*, 1988) y su ligando el *locus* MGF (*Mast Cell Growth Factor*) o SLF (*steel factor*) (COPELAND *et al.*, 1990). El *locus* KIT sería el responsable del fenotipo berrendo, mientras que el *locus* MGF es el responsable del fenotipo ruano del ganado bovino (CHARLIER *et al.*, 1996; SEITZ *et al.*, 1999).

El *locus Extension* o Mc1r

La serie alélica del *locus Extension* es responsable de la diferenciación dentro de los bovinos de grandes grupos de razas. Diferentes alelos de ese gen produce animales de color negro compacto en piel y mucosas, berrendos o no, como en el caso de las razas Angus o Frisona, animales de capa y mucosas rubias, con una gran variedad en la intensidad del color desde el retinto de las razas Danesa Roja o Retinta a los rubios muy claros como en algunos animales de raza Guernesey o Rubia Gallega (de capa *marela*) y animales castaños, caracterizados por una distribución de diferentes combinaciones de pelos rojos y negros, con mucosas y extremos negros, y terneros colorados al nacimiento.

Las mutaciones en el *locus Extension* o Mc1r (receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos) son responsables de diferentes fenotipos de color debido a que afectan a la funcionalidad del gen. Los alelos dominantes para el *locus Extension* incrementan el tipo de pigmentación de tipo *eumelánico* y, al contrario, los alelos recesi-

vos que bloquean el efecto de la *eumelanina,* favorecen la producción de pigmentación *phaeomelánica* o roja.

Para la localización del *locus Extension* en bovino se utilizó una estrategia de gen candidato. En los humanos el gen se localiza en la zona 16q24.3 y se conoce su secuencia completa (CHHALJLANI y WIKBERG, 1992). El gen ortólogo de ratón se localiza en el cromosoma 8 (MOUNTJOY *et al.*, 1992). El alineamiento de las secuencias de los genes humanos y de ratón permitió localizar en el cromosoma 18 el gen ortólogo bovino y descifrar la secuencia completa de su ADN codificante (Sec. BDF3, VANETTI *et al.*, 1994, KLUNGLAND *et al.*, 1995). La zona codificante completa del gen Mc1r bovino consta de un solo exón de 948 pb. (ROBBINS *et al.*, 1993, VANETTI *et al.*, 1994).

En bovinos, se han identificado diversos alelos de este gen (cuadro 1) en animales de diferentes razas europeas (KLUNGLAND *et al.*, 1995, JOERG *et al.*, 1996, GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000, KLUNGLAND *et al.*, 2000; ROUZAUD *et al.*, 2000, KRIEGESMANN *et al.*, 2001):

- **E^+**: alelo salvaje, propio de las razas de capa castaña, que permite la expresión del *locus Agouti.* La coloración de los animales homocigotos para este alelo depende del *locus Agouti.*
- **E^D (L99P)**: alelo con carácter dominante que conduce a una coloración negra, propia del ganado Frisón negro. Es una mutación que implica que el receptor esté constantemente activado, provocando la formación de *eumelanina* y, por lo tanto, color negro dominante (KLUNGLAND *et al.*, 1995).
- **e (310delG)**: alelo recesivo rojo, propio de razas rubias. Es una mutación en el receptor que lo mantiene constantemente inactivo, provocando la formación de *phaeomelanina*, y por lo tanto responsable del color rojo recesivo (JOERG *et al.*, 1996). Este alelo puede presentar otros polimorfismos que acompañan a la mutación causal dando lugar a diversos haplotipos: 410C_T (KRIEGESMANN *et al.*, 2001) y 274C_T (MAUDET, 2002) en raza Salers, 554A_T en raza Bazadaise (MAUDET, 2002).

Cuadro 1. Descripción de las variantes alélicas de mayor importancia del gen Mc1r encontradas en ganado bovino

Table 1. Description of the major allelic variants of locus Mc1r in cattle

Alelo	296	310	651	667
E^+	T	G	-	C
e	·	-	·	·
E^D	C	·	·	·
E^1	·	·	TGCCCGGGGCAT	·
E^2	·	·	·	T

(·) significa una base idéntica al alelo E^+.

(·) means the identity of the allele with the allele E^+.

(-) significa una deleción.

(-) means a deletion in this position.

- **E^1 (ARGI218-219ins)**: alelo dominante, causante del fenotipo de las capas típicas de la raza Gasconne y de capas más claras de la raza Aubrac. También se ha encontrado en raza Pardo Alpina (KRIEGESMANN *et al.*, 2001; GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000) y, en nuestro laboratorio, también se ha encontrado en animales del tronco castaño de razas Asturiana de los Valles y de la Montaña.

- **E^2 (R223W)**: alelo que se ha encontrado en las razas Pardo Alpina (GRAPHODATSKAYA *et al.*, 2000), y en nuestro laboratorio también se ha encontrado en animales del tronco castaño de las razas Tudanca, Asturiana de los Valles y de la Montaña.

Además de estos polimorfismos, MAUDET (2002) encuentra en raza Flamande otros posibles polimorfismos: H185Y, 603C_T, 754insT, lo que abundaría en la posibilidad de usar este locus en estudios de diversidad (KLUNGLAND *et al.*, 2000).

En ganado bovino existe el fenotipo atigrado que ha sido descrito en el ganado asturiano como *rayón* (SÁNCHEZ BELDA, 1982) que coincidiría con el *locus Brindle* (**Br**). La existencia de variantes *Agoutí* del fenotipo rayón (*en verdugo* y *en morcillo*) ha permitido sostener la hipótesis de que el locus **Br** podría ser una variante alélica del *locus Extension* (OLSON, 1988). De esta manera, se ha asociado la presencia de estos patrones atigrados a alelos parcialmente recesivos del locus extensión en cobayas (IBSEN, 1919; CHASE 1939) y conejos (PUNNET, 1924). Sin embargo, al menos en raza Highland se han descrito fenotipos rayones en animales con genotipos E^+/E^+ y E^+/e (SCHMUTZ, comunicación personal). Asimismo, en raza Normanda, que presenta animales rayones en alta frecuencia, ROUZAUD *et al.*, (2000) sólo encontraron genotipos E^+/E^+. Los *loci* responsables de la dilución del color (**Dc** y **Ds**) pueden tener una determinación similar a capas descritas en cánidos (NEWTON *et al.*, 2000).

El *locus Agouti* o ASIP

El producto del gen *Agouti* es uno de los ligandos del receptor de la hormona estimuladora de melanocitos, con actividad antagonista a la MSH. El gen *Agouti* se extiende a lo largo de 18 kb. del cromosoma 13 bovino. La zona codificante se encuentra dividida en 4 exones, con tamaños comprendidos entre 65 y 385 pb.

En ganado bovino se ha propuesto la existencia de, al menos, cuatro alelos para el gen *Agouti* (OLSON, 1998):

- **A^+**: el gen salvaje que produce un fenotipo castaño, más o menos oscuro y de mayor o menor extensión dependiendo del sexo del animal. Permite la expresión del alelo **E^+**. Presente en razas de capas castañas.

- **A^{bp}**: provoca la aparición de un fenotipo casi enteramente negro no influenciado por el sexo. Dominante en presencia de **E^+** e hipostático en presencia de **E^D**. Propio de razas como la Avileña o Frisona.

- **a^w**: alelo recesivo que provoca una distribución uniforme del pigmento negro, por remoción del pigmento rojo y parcialmente del negro. Propio de la raza Pardo Alpina.

- **a^i**: alelo recesivo que provoca la remoción del color negro y la decoloración del rojo, sobre todo en el vientre y bragadas. Puede estar presente en razas como la Jersey o las Asturianas.

En cualquier caso, se puede suponer la existencia de un mayor número de alelos del gen *Agouti*, posiblemente interactuando con alelos del *locus Extension* como el $\mathbf{E^1}$, $\mathbf{E^+}$ y/o $\mathbf{E^2}$. En ratón se encuentran ejemplos de diferentes capas asociadas a mutaciones en el gen *Agouti* (BULTMAN *et al.*, 1992; ZHENG *et al.*, 1999). La acción del *locus Agouti* puede estar implicada en la existencia de tonos diferentes en las capas castañas y de rojo en animales homocigotos para el alelo **e** del *locus Extension* (ROUZAUD *et al.*, 2000). En este sentido no sería descartable la existencia de un efecto epistático del *locus Agouti* con el gen TYRP1, aunque los estudios realizados en razas europeas de ganado bovino no parecen apoyar esta hipótesis (MAUDET, 2002). Sin embargo, en un trabajo reciente se ha puesto de manifiesto que, tras muestrear un importante número de razas con fenotipo salvaje y genotipo conocido para el locus Extension, no existe variación alguna en la secuencia codificante del gen Agouti (ROYO *et al.*, 2004).

También se han descrito efectos pleiotrópicos asociados a alelos de este gen, como la obesidad o la diabetes (BULTMAN *et al.*, 1992), fundamentalmente debido a mutaciones dominantes que inducen expresión ectópica en tejido nervioso, uniéndose a los receptores de melanocortina 3 y 4 (Mc3-r, Mc4-r) en el hipotálamo, lo que provocaría una hiperfagia inducida por la proteína *agouti*. Además, el gen *agouti* fue el primer gen clonado relacionado con la obesidad (BULTMAN *et al.*, 1991). Tiene efecto sobre el metabolismo del adipocito, funcionando como un regulador autocrino de la leptina (el producto del gen *obese, ob*), lo que da lugar al primer indicio de regulación de un gen de la obesidad por medio de otro gen de la obesidad, sugiriendo que la interacción entre estos genes puede tener un importante papel en los síndromes de obesidad (CLAYCOMBE *et al.*, 2000).

El *locus Spotting* o KIT

El *locus* KIT se compone de una secuencia de ADN codificante de 3069 pb. (D16680, KUBOTA *et al.*, 1994), dividida en 21 exones que comprenden aproximadamente 70 kb. de ADN genómico. Tradicionalmente se han descrito cuatro alelos asociados a la presencia de manchas blancas en el cuerpo del ganado bovino (OLSON, 1998):

- $\mathbf{S^+}$: el gen salvaje que regularía la no existencia de manchas, al menos en homocigosis. Se encontraría en las razas bovinas de color compacto.
- $\mathbf{S^H}$: alelo con dominancia incompleta que provoca el patrón de manchado propio de la raza Hereford.
- $\mathbf{S^P}$: alelo con dominancia incompleta que provoca el patrón de manchado propio de la raza Pinzgauer.
- **s**: alelo recesivo que provoca el manchado típico de la raza Frisona. La extensión del blanco es variable. Puede ser responsable del fenotipo de mínimo manchado de las razas de colores compactos.

En bovino, se ha puesto de manifiesto la existencia de un QTL del grado de manchado en el cromosoma 6 (REINSCH *et al.*, 1999). Esta es la región donde se encuentra el *locus* KIT, homóloga a la zona donde mapea el mismo *locus* en humano y ratón. Mutaciones en el gen KIT provocan la aparición de fenotipos similares a la capa berrenda en bovino y además la región muestra sinténia con el QTL que afecta al grado de manchado. Esto convierte al gen KIT en un candidato para la presencia del carácter berrendo en bovino. Se ha descrito un polimorfismo neutro (OLSEN *et al.*, 2000) en el gen bovino que, sin embargo, no parece estar asociado con la presencia de man-

chas. KLUNGLAND *et al.* (2000) sugieren que puede ser un alelo del *locus* KIT diferente en cada raza o población el que provoca los diferentes fenotipos de manchado aunque no puede descartarse un fenotipado deficiente de los animales estudiados.

Se trata de un gen complejo que puede tener una acción pleiotrópica en caracteres productivos como la producción lechera (BECERRIL *et al.*, 1993) o procesos patológicos (NAGATA *et al.*, 1995, GIEBEL y SPRITZ, 1991, LONGLEY *et al.*, 1999). No es descartable que diversos alelos del *locus* KIT sean responsables de los fenotipos del *fajado* de la raza Galloway (**Bt**), del manchado irregular (**Cs**) o del manchado típico de la raza Normanda (**Bc**), bien por sí mismos o interactuando con diversos alelos de su ligando, el *locus Ruano*. La presencia de estrella en la frente se hereda de forma independiente del manchado, lo que indica la existencia de un segundo *locus* implicado en los fenotipos de manchado irregular (ROBINSON, 1998).

El *locus Ruano* o MGF

El *locus Ruano* (*roan*) está asociado a la aparición de una capa típica de las razas Blanco Azul Belga y Shorthorn. Análisis de ligamiento en familias de la raza Blanco-Azul Belga (CHARLIER *et al.*, 1996) localizaron el locus Ruano en el cromosoma 5. La misma mutación en su secuencia codificante, provoca la aparición del fenotipo *Ruano* en las razas Blanco-Azul belga y Shorthorn (SEITZ *et al.*, 1999).

Sólo se han descrito dos alelos codominantes en este *locus*:

- **r**: que sería el alelo salvaje, normalmente presente en razas de colores compactos.
- **R**: en heterocigosis con el alelo salvaje, alelo responsable del fenotipo ruano, caracterizado por una mezcla de pelos pigmentados y despigmentados. En homocigosis, produce un fenotipo casi completamente blanco, excepto en los bordes de las orejas.

El *locus ruano* es el ligando del *locus* KIT. Este gen ha recibido atención por su efecto pleiotrópico sobre la fertilidad (CHARLIER *et al.*, 1996) en la denominada *white heifer disease* presente en la raza Blanco Azul Belga. La secuencia del ADN codificante del *locus ruano* bovino está interrumpida en 9 exones (ZHOU *et al.*, 1994). A partir de los límites conocidos de los exones dentro del ADN codificante, se diseñaron oligos para amplificar los 9 exones a partir de ADN genómico (SEITZ *et al.*, 1999). El *locus ruano* parece tener diversas funciones que se expresan en los diferentes nombres que recibe: KL (KIT *ligand*), SLF (*steel factor*), SCF (*stem cell factor*), MGF (*Mast Cell Growth Factor*).

El *locus ruano* está poco estudiado y su interacción con el *locus* KIT no está suficientemente aclarada. La determinación de otros alelos que pueda presentar este *locus*, conduciría a una definición más clara de los diferentes patrones del fenotipo berrendo en ganado bovino. Además, puede mejorar el conocimiento de los QTL que intervienen en la producción lechera.

Discusión

Teniendo en cuenta las bases moleculares de la pigmentación, resulta sencillo establecer algunas reglas generales en las diferentes especies de animales domésticos en relación a las capas de color compacto:

Los patrones *eumelánicos* dominantes aparecen como consecuencia de mutaciones en el gen Mc1r que lo mantienen constitutivamente activado. El estudio de las características de la proteína sugiere que los polimorfismos que afectan al segundo y tercer domino transmembrana, provocan este tipo de mutaciones dominantes. Así por ejemplo, los alelos del gen Mc1r con polimorfismos en estos dominios, dan lugar a individuos de capa negra en ratón (ROBBINS *et al.*, 1993), raza frisona en bóvidos (KLUNGLAND *et al.*, 1995), razas Meishan, LargeBlack y Hampshire de cerdos (KIJAS *et al.*, 1998), ovejas (VÅGE *et al.*, 1999) y perros (NEWTON *et al.*, 2000). Sin embargo, también pueden encontrarse patrones de tipo *eumelánico* con carácter recesivo asociadas a alelos de tipo salvaje en el gen Mc1r que aparecen por mutaciones disruptivas en el gen *Agouti*. En este caso, el incremento de función de la síntesis de *eumelanina* es debido a la pérdida de función de la proteína antagonista del receptor Mc1r. Este es el caso del color negro recesivo descrito en diversas razas de caballos (RIEDER *et al.*, 2001), líneas de ratón (BULTMAN *et al.*, 1992) y en el zorro (VÅGE *et al*, 1997).

De modo análogo, los patrones *phaeomelánicos* recesivos vendrán acompañados de polimorfismos que produzcan alelos con pérdida de función del receptor Mc1r, como en el caso de las mutaciones disruptivas descritas en el *locus Extension*. Así, encontramos patrones *phaeomelánicos* (capas coloradas o amarillentas) en las razas bovinas Frisona, Salers, Retinta, Rubia Gallega (JOERG *et al.* 1996), razas caninas Golden, Labrador y Seter irlandés (NEWTON *et al.*, 2000), caballos alazanes (MARKLUND *et al.*, 1996; RIEDER *et al.*, 2001) y en la raza porcina Duroc (KIJAS *et al.*, 1998). También se han descrito alelos de este tipo en el zorro rojo (ADALSTEINSON *et al.*, 1987). Desde un punto de vista teórico podría pensarse en la existencia de un patrón *phaeomelánico* de tipo dominante. Esto sería posible si existiera una mutación que provocara una ganancia de función en el gen *Agouti* asociada a un alelo salvaje del gen Mc1r. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito este tipo de patrones en el ganado.

Como ya se ha dicho, los patrones de manchado o berrendo responden a la migración diferencial de los melanocitos desde la cresta neural. Se han descrito fenotipos de despigmentación asociados a mutaciones en la secuencia del gen KIT (receptor tirosin-kinasa), tanto en humanos (FLEISCHMAN *et al.*, 1991, GIEBEL y SPRITZ, 1991), como en ratón (GEISLER *et al.*, 1988) y cerdos (MOLLER *et al.*, 1996, GIUFRA *et al.*, 1999). El fenotipo blanco dominante típico de las denominadas razas de cerdo blanco (Yorkshire, Landrace, y Large White) está causado por una mutación en el gen KIT, que afecta a la migración de los melanocitos, ya que éstos no se encuentran en la piel de estos animales (MOLLER *et al.*, 1996).

Los genes KIT y su ligando MGF actúan sobre el crecimiento y diferenciación de los melanocitos, células hematopoyéticas, y germinales. Por lo tanto, mutaciones en estos genes estarán asociadas con desordenes pigmentarios, anemia, esterilidad e incluso con letalidad recesiva. El gran número de mutaciones descritas en el *locus* KIT en ratones, se pueden dividir en dos grandes grupos: a) estructurales, que provocan la aparición de un receptor con baja o nula actividad tirosinasa, y b) reguladoras, que dan lugar a alteraciones en la expresión del gen. Los individuos portadores de mutaciones reguladoras son, normalmente, viables y se caracterizan por presentar defectos de pigmentación. También en ratones se ha descrito una mutación que afecta a la expresión específica de tejido del gen KIT, en la

Cuadro 2. Número de individuos (N) y frecuencias alélicas encontradas en el locus Extensión (Mc1r) de diversas razas bovinas europeas

Table 2. Number of individuals and allelic frequencies for the Extension locus (Mc1r) in European cattle breeds

Capa	N	E^+	e	E^D	E^1	E^2
Abondance[1]	32		1,00			
Asturiana de los Valles[3]	62	0,13	0,4		0,13	0,7
Asturiana de la Montaña[3]	36	0,08	0,03		0,04	0,85
Aubrac[4]	74	0,22				0,78
Bazadaise[1]*	4		1,00			
Blanc Bleu[1]	3	1,00				
Bleue du Nord[1]	3	1,00				
Blonde d'Aquitaine[4]	33		1,00			
Cabannia[1]	3	0,50			0,50	
Charolais[4]	33		1,00			
Chiania[1]	5	0,40	0,40			0,20
Gasconne[2]	64	0,46			0,54	
Holstein[4]	119			1,00		
Limousine[4]	48		1,00			
Maine Anjou[1]	32		1,00			
Marchigiana[1]	5					1,00
Maremmana[1]	5					1,00
Montbéliarde[1]	6		1,00			
Normande[4]	81	1,00				
Pajuna[3]	30	0,40	0,05		0,05	0,50
Parda Alpina[3]	18	0,72			0,20	0,08
Parthenaise[1]	4	0,13			0,87	
Pezzata Rossa[1]	5		1,00			
Piemontese[1]	5					1,00
Rendena[1]	5		1,00			
Salers[4]*	62		1,00			
Simmental[1]	6		1,00			
Tarentaise[1]	32	0,05			0,95	
Tudanca[3]	31					1,00
Valdaostana Rossa[1]	5					1,00
Villard de Lans[1]	15		1,00			
Vosgienne[1]	8			1,00		

(1) MAUDET (2002).

(2) ROZAUD *et al.* (2000).

(3) ROYO *et al.* (2003a).

(4) estimado a partir de la suma de animales genotipados por MAUDET (2002) y ROUZAUD *et al.* (2000) en esas razas.

(4) estimated by summing up the animals genotyped by MAUDET (2002) y ROUZAUD et al. (2000) in these breeds.

(*) Suma de los haplotipos del alelo e descritos por MAUDET (2002) en esa raza.

(*) Includes all the haplotypes described for MAUDET (2002) for the allele e in this breed.

que las secuencias codificantes no están alteradas, y que por lo tanto debe estar en alguna región de control del promotor del gen (DUTTLINGER *et al.*, 1995). De forma análoga, el fenotipo fajado de típico de la raza de cerdos Hampshire, estará asociado a una mutación reguladora del gen KIT, aunque la mutación causal concreta no ha sido identificada (GIUFFRA *et al.*, 1999). Posiblemente la causa del fenotipo fajado en las razas bovinas Belted Galloway y Dutch Belted, haya que buscarla en las regiones reguladoras del gen KIT. El fenotipo blanco dominante en los cerdos está asociado a una duplicación de un fragmento cromosómico que afecta al gen KIT completo y a una mutación que lleva consigo un fenómeno de procesamiento alternativo, lo que provoca la falta de un exón en el transcrito del gen KIT (MARKLUND *et al.*, 1998). Otros autores han comprobado posteriormente la existencia de toda una serie de mutaciones en el gen KIT que también se asocian a fenotipos blancos en ganado porcino (PIELBERG *et al.*, 2002). En ese sentido, llama la atención la alta diversidad alélica del gen KIT en los porcinos domésticos. En otras especies se ha propuesto al *locus* KIT como gen candidato responsable de los fenotipos ruano y pío en caballos (MARKLUND *et al.*, 1999); sin embargo, se le ha descartado como gen candidato del fenotipo manchado en la raza de perros Border Collies (METALLINOS y RINE, 2000).

Conclusiones

Las bases genéticas de la variación del color de la capa en ganado bovino no se encuentran totalmente esclarecidas. Su utilización en programas nacionales o internacionales de conservación de la variabilidad genética se ve comprometida por la dificultad de diferenciar fenotipos muy próximos que pueden, en algunos casos, estar determinados por alelos o combinaciones alélicas singulares, y que merecerían ser conservadas por sí mismas (KLUNGLAND *et al.*, 2000). No es descartable que diversas combinaciones de los genes responsables de la variación del color interactúen para dar lugar a fenotipos específicos, a veces muy próximos y difícilmente distinguibles. Incluso, es posible encontrar intensidades diferentes de color rojo en animales homocigotos recesivos para el *locus Extension*, lo que llevaría a pensar que el receptor de la hormona estimuladora de los melanocitos, en principio alterado, podría conservar cierta funcionalidad, y que los productos del gen *Agouti*, o de otros genes relacionados, pudieran modificar el fenotipo *phaeomelánico* (ROUZAOUD *et al.*, 2000), o bien que estas diferentes intensidades sean el reflejo de alteraciones en los elementos reguladores en *cis*, que harían que alelos inactivos del gen Mc1r se expresen más o menos y, por lo tanto, den lugar a cantidades diferentes de *phaeomelanina*.

El estudio e identificación de los posibles alelos de los genes responsables del manchado KIT y ruano, ayudará a conocer el grado de introgresión de razas con patrones de manchado en razas con patrones sólidos de color, como por ejemplo de la raza frisona en gran parte de los animales de las razas autóctonas de la cordillera cantábrica.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Plan de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación (I+D+I) de Asturias 2001-2004, mediante el proyecto PC-REC01-01.

Bibliografía

ADALSTEISSON S., BJARNADOTTIR S., VÅGE D.I., JONMUNDSSON J.V., 1995. Brown coat color in Icelandic cattle produced by the loci Extensión and Agouti. J Hered 86: 395-398.

BECERRIL C.M., WILCOX C.J., LAWLOR T.J. WIGGANS G.R., WEBB D.W., 1993. Effects of Percentage of White Coat Color on Holstein Production and Reproduction in a Subtropical Environment. J. Diary Science, 76: 2286-2291.

BECERRIL C.M., WILCOX C.J., WIGGINS G.R., SIGMON K.N., 1994. Transformation of measurements of percentage of white coat colour for Holsteins and estimation of heritability. J. Dairy Sci. 77: 2651-2657.

BERRYERE T.G., SCHMUTZ S.M., SCHIMPF R.J., COWAN C.M., POTTER J., 2003. TYRP1 is associated with dun coat colour in Dexter cattle or how now brown cow? Animal Genetics, 34: 169-175.

BULTMAN S.J., RUSSELL L.B., GUTIERREZ-ESPELETA G.A., WOYCHICK R.P., 1991. Molecular characterization of a region of DNA associated with mutations at the agouti locus in the mouse. PNAS USA., 88: 8062-8066.

BULTMAN S.J., MICHAUD E.J., WOYCHICK R.P., 1992. Molecular characterization of the mouse agouti locus Cell 71: 1195-1204.

CAMACHO-HÜBNER A., BEERMANN F., 2000. Caractéristiques cellulaires et moléculaires de la pigmentation chez les mammifères – tyrosynase et TRP. Pathol Biol, 48: 577-583.

CHARLIER C., DENYS B., BELANCHE J.I., COPPIETERS W., GROBET L., MNI M., WOMACK J., AHNSET R., GEORGES M., 1996. Microsatellite mapping of the bovine roan locus: a major determinant for white heifer disease. Mammalian Genome, 7: 138-142.

CHASE H.B., 1939. Studies onthe tricolor pattern of the guinea-pig. II. The distribution of black and yellow as affected by white spotting and by imperfect dominance in the tortoiseshell series of alleles. Genetics, 24: 610-643.

CHHALJLANI V., WIKBERG J.E., 1992. Molecular cloning and expression of the human melanocyte stimulating hormone receptor cDNA. FEBS Lett., 309: 417-420.

CLAYCOMBE K.J., XUE B.Z., MYNATT R.L., ZEMEL M.B., MOUSTAID-MOUSSA N., 2000. Regulation of leptin by agouti. Physiol Genomics, 2: 101-105.

COPELAND N.G., GILBERT D.J., CHO B.C., DONOVAN P.J., JENKINS N.A., COSMAN D., ANDERSON D., LYMAN S.D., WILLIAMS D.E., 1990. Mast cell growth factor maps near the steel locus on mouse chromosome 10 and is deleted in a number os steel alleles. Cell, 63: 175-183.

DUTTLINGER R., MANOVA K., BERROZPE G., CHU T.Y., DELEON V., TIMOKHINA I., CHAGANTI R.S.K., ZELENETZ A.D., BACHVAROVA R.F., BESMER P., 1995. The *W*^{sh} and *Ph* m,utations affect the *c-kit* expression profile: *c-kit* misexpression in embryogenesis impairs melanogenesis in *W*^{sh} and *Ph* mutant mice. PNAS USA, 92: 3754-3758.

FINCH V.A., WESTERN D., 1977. Cattle colours in pastoral herds: natural selection or social preference. Ecology, 58: 1384-1393.

FLEISCHMAN R.A., SALTMAN D.L., STASTNY V., ZNEIMER S., 1991. Deletion of the c-kit Protooncogene in the Human Developmental Defect Piebald Trait. PNAS, 88: 10885-10889.

GEISSLER E.D., CHENG S.V., GUSELLA J.F., HOUSMAN D.E., 1988. Genetic analysis of the dominant white-spotting (W) region on mouse chromosome 5: identification of cloned DNA markers near W. PNAS, 85: 9635-9639.

GIEBEL L.B., SPRITZ RA., 1991. Mutation of the KIT (Mast/Stem Cell Growth Factor Receptor) Protooncogene in Human Piebaldism. PNAS 88: 8696-8699.

GIUFFRA E., EVANS G., TÖRNSTEN A., WALES R., DAY A., LOOFT H., PLASTOW G., ANDERSSON L., 1999. The belt mutation in pigs is an allele at the dominant white (I/KIT) locus. Mammalian Genome, 10: 1132-1136.

GRAPHODATSKAYA D., JOERG H., STRANZINGER G.F., 2000. Polymorphism in the MSHR gene of different cattle breeds. Veterinarni-Medicina Czech 45: 290-295.

HEARING V.J., TSUKAMOTO K., 1991. Enzymatic control of pigmentation in mammals. FASEB Journal, 5: 2902-2909.

IBSEN H.L., 1919. Tricolor inheritance. IV. The triple allelomorphic series in guinea-pigs. Genetics, 4: 597-606.

JACKSON I.J., 1993. Molecular genetics. Color-Coded switches. Nature, 362: 587-588.

JOERG H., FRIES H.R., MEIJERINK STRANZINGER G.F., 1996. Red coat colour in holstein cattle is associated with a deletion in the MSHR gene. Mammalian Genome 7: 317-318).

KIJAS J.M.H., WALES R., TÖRNSTEN A., CHARDON P., MOLLER M., ANDERSSON L., 1998. Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs. Genetics, 150: 1177-1185.

KLUNGLAND H., VÅGE D.I., GOMEZ-RAYA L., ADALSTEINSSON S., LIEN S., 1995. The role of melanocyte-stimulating hormone (MSH) receptor in bovine coat color determination. Mammalian Genome 6: 636-639.

KLUNGLAND H., OLSEN H.G., HASSANANE M.S., MAHROUS K., VÅGE D.I., 2000. Coat colour genes in diversity studies. J Anim Breed Genet, 117: 217-224.

KRIEGESMANN B., DIERKES B., LEEB T., JANSEN S., BRENIG B., 2001. Two breed-specific bovine Mc1-r alleles in brown swiss and salers breeds. J. Dairy Sci., 84:1768-1771).

KUBOTA T., HIKONO H., SASAKI E., SAKURAI M., 1994. Sequence of a bovine c-kit proto-oncogene cDNA Gene, 141: 305-306.

LONGLEY B.J., METCALFE D.D., THARP M., WANG X., TYRRELL L., LU S., HEITJAN D., MA Y., 1999. Activating and dominant inactivating c-*KIT* catalytic domain mutations in distinct clinical forms of human mastocytosis. PNAS 96: 1609-1614.

MARKLUND S., KIJAS J., RODRIGUEZ-MARTINEZ H., RONNSTRAND L., FUNA K., MOLLER M., LANGE D., EDFORS-LILJA I., ANDERSSON L., 1998. Molecular basis for the dominant white phenotype in the domestic pig. Genome Research, 8: 826-833.

MARKLUND S., MOLLER M., SANDBERG K., ANDERSSON L., 1999. Close association between sequence polymorphism in the KIT gene and the roan coat color in horses. Mammalian Genome, 10: 283-288.

MAUDET C., TABERLET P., 2002. Holstein milk detection in cheeses inferred from melanocortin receptor 1 (Mc1r) gene polymorphism. J. Dairy Sci, 85: 707-715.

METALLINOS D., RINE J., 2000. Exclusion of EDNRB and KIT as the basis for white spotting in Border Collies. Genome Biology, 1: 41-44.

MOLLER M.J., CHAUDHARY R., HELLMEN E., HOYHEIM B., CHOWDHARY B., ANDERSSON L., 1996. Pigs with the dominant white coat color phenotype carry a duplication of the KIT gene encoding the mast/stem cell growth factor receptor, Mammalian Genome, 7: 822-830.

MOUNTJOY K.G., ROBBINS L.S., MORTRUD M.T., CONE R.D., 1992. The cloning of a family of genes thet encode the melanocortin receptors. Science, 257: 1248-1251.

NAGATA H., WOROBEC A.S., OH C.K., CHOWDHURY B.A., TANNENBAUM S., SUZUKI Y., METCALFE D.D., 1995. Identification of a point mutation in the catalytic domain of the protooncogene c-kit in peripheral blood monuclear celles of patients who have mastocytosis with an associated hematologic disoder PNAS, 92: 10560-10564.

NEWTON J.M., WIKKIE A.L., HE L., JORDAN S.A., METALLINOS D.L., HOLMES N.G., JACKSON I.J., BARSH G.S., 2000. Melanocortin 1 receptor variation in the domestic dog. Mammalian Genome, 11: 24-30.

OLSEN H.G., VÅGE D.I., LIEN S., KLUNGLAND H., 2000. A DNA polymorphism in the bovine c-kit gene. Anim. Genet., 31:71.

OLSON T.A., 1998. Genetics of colour variation. En Fries y Ruvinsky Eds., The Genetics of Cattle, 33-53.

PIELBERG G., OLSSON, C., SYVÄNEN A.C., ANDERSSON L., 2002. Unexpectedly high allelic diversity at the KIT locus causing dominant white color in the domestic pig. Genetics, 160: 305-311.

PUNNET R.C., 1924. On the japanese rabbit. J. Genet., 14: 230-240.

REINSCH N., THOMSEN H., XU N., BRINK M., LOOFT C., KALM E., BROCKMANN G.A., GRUPE S., KUHN C., SCHWERIN M., LEYHE B., HIENDLEIDER S., ERHARDT G., MEDJUGORAC I., RUSS I., FORSTER M., REENTS R., AVERDUNK G., 1999. A QTL for the degree of spotting in cattle shows synteny with the KIT locus on chromosome 6. J. Hered., 90: 629-634.

RIEDER S., TAOURIT S., MARJAT D., LANGLOIS B., GUÉRIN G., 2001. Mutations in the agouti (*ASIP*), the extension (*MC1R*) and the brown (*TYRP1*) loci and their assocciation to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*). Mammalian Genome, 12: 450-455.

ROBBINS L.S., NADEAU J.H., JOSON K.R., KELLY M.A., ROSLLI-REHFUSS L., BAACK E., MOUNTJOY K.G.,

CONE R.D., 1993. Pigmentation phenotypes of variant extension locus alleses result from point mutations that alter MSH receptor function. Cell. 72: 827-834.

ROBINSON R., 1998. Head spot and dilute mutations in the norway rat, J. Hered., 89: 100-101.

ROUZAUD F., MARTIN J., GALLET P.F., DELOURME D., GOULEMOT-LEGER V., AMIGUES Y., MENISSIER F., LEVEZIEL H., JULIEN R., OULMOUDEN A., 2000. A first genotyping French cattle breeds based on a new allele of the extension gene encoding the melanocortin-1 receptor (MC1R). Genet. Sel. Evol., 32: 511-520.

ROYO L.J., ÁLVAREZ I., LUQUE A.J., FERNÁNDEZ I., DE ARGÜELLO S., MOLINA A., ROBLES M., GOYACHE F., 2003. Genotipado del locus Extension (Mc1r) en cinco razas bovinas españolas de capa castaña. ITEA, 24Vol. Extra II: 501-503.

ROYO L.J., ÁLVAREZ I., FERNÁNDEZ I., ARRANZ J.J., GÓMEZ E., GOYACHE F., 2004. Short communication: Agouti variation within wild-type coat color in cattle is not dependent on changes in the coding sequence of the ASIP gene. J. Dairy Sci., enviado para publicación.

SÁNCHEZ BELDA A., 1982. Razas de ganado bovino de España, Ediciones de Extensión Agraria, Madrid.

SCHMIDTZ B.H., BUCHANAN F.C., PLANTE Y., SCHMUTZ S.M., 2001 Linkage mapping of the tyrosinase gene to bovine chromosome 29. Anim. Genet. 32: 119-120.

SEITZ J.J., SCHMUTZ S.M., THUE T.D., BBUCHANAN F.C., 1999. A missense mutation in the bovine MGF gene is associated with the roan phenotype in Belgian Blue and Shorthorn Cattle. Mamm. Genome, 10: 710-712.

SPONENEBERG D.P., 1997. Genetic of colour and hair texture. En Piper y Ruvinsky Eds., The Genetics of Sheep, 51-86.

VÅGE D.I., LU D., KLUNGLAND H., LIEN S., ADALSTEINSSON S., CONE R.D., 1997. A non-epistatic interaction of agouti and extension in the fox, Vulpes vulpes. Nature Genetics, 15: 311-315.

VÅGE D.I., KLUNGLAND H., LU D., CONE R.D., 1999. Molecular and pharmacological characterization of dominant black coat color in sheep. Mammalian Genome, 10: 39-43.

VANETTI M., SCHONROCK C., MEYERHOF, W., HOLLT, V., 1994. Molecular cloning of a bovine MSH receptor which is highly expressed in the testis. FEBS Lett, 348: 268-272.

ZHENG B., MILLS A.A, BRADLEY A., 1999. A system for rapid generation of coat color-tagged knockouts and defined chromosomal rearrangements in mice. Nucleic Acids Research, 27: 2354-2360.

ZHOU J-H., HIKONO H., OHTAKI M., KUBOTA T., SAKURAI M., 1994. Cloning and characterization of cDNAs encoding two normal isoforms of bovine stem cell factor. Biochim. Biophys Acta, 1223: 148-151.

Aceptado para publicación el 22 de enero de 2004).

ITEA (2004), Vol. **100A N.° 1**, 30-42

EFECTO DEL USO DE PROMOTORES DEL CRECIMIENTO (HORMONAS + DEXAMETASONA Y CLENBUTEROL + DEXAMETASONA) SOBRE LA CALIDAD DE LA CANAL EN AÑOJOS PESADOS

F. Monsón*, G. Bianchi*, C. Sañudo[1,]*, J.L. Olleta*, B. Panea*, P. Albertí, A. Ariño***

* Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España.

** Unidad de tecnología en Producción Animal, Servicio de Investigación Agroalimentaria. Gobierno de Aragón, Carretera de Montañana s/n, Zaragoza, España.

*E-mail: csanudo@unizar.es

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar la calidad de la canal en animales tratados con diferentes promotores de crecimiento. Se utilizaron 12 añojos (machos enteros) de la raza Blonde d'Aquitaine, divididos en tres lotes: un lote testigo, un lote tratado con clenbuterol (+ dexametasona) y un lote tratado con benzoato de estradiol y progesterona (+ dexametasona). Se estudiaron los resultados productivos del cebo de estos animales, se valoraron la conformación, el estado de engrasamiento de las canales, se realizaron medidas morfométricas de las mismas y se procedió a valorar su composición tisular y su despiece comercial. No se han encontrado diferencias significativas en los índices productivos: peso vivo, ganancia media diaria e índice de conversión entre lotes, aunque sí se encontraron diferencias en el rendimiento de la canal y superficie de lomo, algo mayor en los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona), y en el engrasamiento de las canales, algo menor en estos mismos animales. Dentro de las medidas morfométricas sólo se aprecia una ligera diferencia en el perímetro de la pierna, algo mayor en los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona), quienes presentaron un porcentaje ligeramente superior de músculo en la disección de la costilla y menos grasa subcutánea, intramuscular y total que los animales tratados con hormonas (+ dexametasona) y los testigos; con respecto al porcentaje de hueso, los animales tratados con hormonas (+ dexametasona) mostraron los mayores valores. Aunque no existen diferencias entre tratamientos en el porcentaje de carne vendible ni en las relaciones carne/grasa o carne/hueso, se han encontrado diferencias en el porcentaje de carne de segunda categoría, ligeramente inferior en el lote testigo.

Por otra parte, las diferencias entre lotes, aunque significativas, no han sido en general tan importantes como para poder decir que la inspección de las canales pueda servir como método de detección del uso fraudulento de promotores del crecimiento en animales con elevada aptitud carnicera.

Palabras clave: Conformación canal, Despiece, Composición tisular.

SUMMARY

EFFECT OF THE USE OF GROWTH PROMOTERS (HORMONES + DEXAMETHASONE AND CLENBUTEROL + DEXAMETHASONE) ON THE QUALITY OF THE CARCASS IN HEAVY YEARLINGS

The present work has the objective of studying the quality of the animal carcass treated with different growth promoters. Twelve yearlings of the Blonde d'Aquitaine breed were used. They were divided in three groups: a control group, a group treated with clenbuterol (+ dexamethasone) and a group treated with estradiol benzoate (+ dexamethasone). We evaluated the carcasses conformation and fatness, and made morphometric measures. Then, conventional quartering was done. There were no statistically significant differences in the productive indexes live weight, daily gain average and conversion index between groups, although there were differences in the carcass yield and the rib eye area, being higher in the animals treated with clenbuterol (+ dexamethasone), and in the carcasses fatness, smaller in the same animals. Within the morphometric measures, only a slight difference in the perimeter of the leg was appreciated, again higher in the animals treated with clenbuterol (+ dexamethasone). These animals presented a slightly superior percentage of muscle in the rib dissection, and less subcutaneous, intramuscular and total fat than animals treated with hormones (+ dexamethasone) and those of the control group. In the percentage of bone, animals treated with hormones (+ dexamethasone) showed the highest values. Although there were no significant differences in the percentage of commercial meat between treatments and in the relations meat/fat and meat/bone, we found statistically significant differences in the percentage of secondary category meat, slightly inferior in the control group.

Since the differences between groups were no statistically significant overall, it is difficult to say whether the inspection of the carcasses could serve as a method to detect the fraudulent use of growth promoters.

Key words: Carcass conformation, Commercial cuts, Tissue composition.

Introducción

En los años 30 se inició en Europa el desarrollo de la industria de los piensos compuestos y, consecuentemente, la disponibilidad de alimentos equilibrados y ajustados a las necesidades de los animales, lo que condujo en gran parte a la intensificación de la ganadería, en concreto el ganado vacuno de carne (CASTRO y JIMENO, 1997).

Posteriormente, se desarrolló un nuevo concepto, los ganaderos comenzaron a buscar más productividad en sus explotaciones y, a la vez, los consumidores de los países desarrollados demandaban productos caracterizados por ciertos parámetros de calidad (carne tierna, jugosa y especialmente con muy poco contenido de grasa). Esta búsqueda de mejoras en la producción animal, junto con la búsqueda de resultados económicos, ha llevado a emplear en la alimentación de los animales determinadas sustancias, denominadas genéricamente aditivos.

El término aditivo se refiere a un conjunto de sustancias que no poseen valor nutritivo, pero que son incorporadas en los piensos de los animales con la finalidad de mejorar las producciones, modificar las características de los alimentos, o mejorar la calidad del producto final.

Posiblemente los promotores del crecimiento permitirían obtener ciertas ventajas

para el productor: a) aumento de la ganancia media diaria; b) canales más magras; c) mejor relación costo/beneficio. Pero estos productos están prohibidos en los animales de producción cárnica por diferentes Directivas Comunitarias. Su uso fraudulento, especialmente de los ß agonistas, se generaliza a principios de los años 90 sustituyendo a los antitiroideos y a las hormonas (LÓPEZ BOTE *et al.*, 1989), siendo el uso ilegal de estas sustancias un hecho real difícil de detectar, teniendo en cuenta el amplio abanico de sustancias utilizadas, su costosa detección y cuantificación y el explicable desfase existente entre sustancias buscadas y utilizadas (CUBERO, 1998). Además la detección de estas sustancias se hace más difícil cuando se emplean los denominados "borradores", uno de ellos que se ha utilizado con bastante frecuencia es la dexametasona (U.S.D.A., 1998). Como han señalado GROTT *et al.* (1998), el empleo de dexametasona disminuye los niveles de promotores del crecimiento en el hígado y en heces, dos de los varios tipos de muestras analizadas para detectar la presencia de sustancias farmacológicas empleadas en forma ilegal.

La acción de estos compuestos (hormonas y ß agonistas) ha sido ampliamente estudiada en animales no especializados en la producción de carne (como razas locales y lecheras) BERGE *et al.* (1993); CHIKOU *et al.* (1993); DAWSON *et al.* (1990); MOLONEY *et al.* (1990); SILLENCE *et al.* (2000), pero su empleo y efecto está menos claro en razas cárnicas. Por todo ello, el objetivo particular de este trabajo ha sido: evaluar el efecto del clenbuterol, estrógenos y progesterona combinados con dexametasona sobre los parámetros productivos y de calidad de la canal en añojos de raza Blonde d'Aquitaine criados en condiciones intensivas.

Este trabajo se engloba dentro de un proyecto del Ministerio de Sanidad y Consumo, cuyo objetivo general es la elaboración y puesta a punto de un protocolo normalizado de inspección en mataderos que permita mejorar el sistema de inspección ante y postmortem en animales sospechosos de presentar residuos de promotores del crecimiento y sustancias de acción farmacológica.

Material y métodos

Se utilizaron 12 terneros, de raza Blonde d'Aquitaine. La edad media al inicio del cebo era aproximadamente de 9 meses, los animales fueron cebados con pienso (proteína bruta 15,5% y energía metabolizable 3,1 Mcal/kg) y paja a voluntad en las instalaciones experimentales del Servicio de Investigación Agroalimentaria del Gobierno de Aragón durante un promedio de 145 días. Tras un período de adaptación de 22 días los animales fueron pesados siendo 344 ± 36,4 kg el peso vivo promedio del grupo al inicio de la experiencia (04/07/01). En este momento los terneros fueron separados en tres lotes experimentales:

El lote 1 fue el testigo y no recibieron tratamiento alguno.

Lote 2 (animales tratados con implante hormonal): recibieron el primer implante en la oreja izquierda a los 28 días de comenzado el experimento (01/08/01), tras 64 días (4/10/01) se les aplicó el segundo implante en la oreja derecha, 31 días más tarde y por un período de 14 días (05/11/01-18/11/01) se les administraron en pienso 7,5 µg/kg de peso vivo de dexametasona (fosfato disódico), siendo suprimida durante los últimos 8 días de cebo. El implante utilizado fue Synovex-S, formulado con 20 mg de benzoato de estradiol y 200 mg de progesterona.

Lote 3 (animales tratados con Clorhidrato de Clenbuterol): Se les comenzó a administrar a los 75 días del inicio de la experiencia y durante 14 días 5 µg/kg de peso vivo; seguidamente se les administró por un período de 35 días 10 µg/kg de peso vivo y finalmente, durante 14 días, 5 µg/kg de peso vivo, con la adición de 7,5 µg de fosfato disódico de dexametasona/kg de peso vivo; estos productos se administraron en el pienso. Posteriormente, y hasta el sacrificio no se administró ningún producto, cumpliendo así con un período de supresión de 8 días.

Los animales fueron pesados periódicamente (cada 7 días) y se controló la ingestión de pienso por lote, calculándose así el índice de conversión del pienso por cada grupo de animales, conjuntamente con la ganancia media diaria por animal. El sacrificio de los animales se realizó en el matadero Mercazaragoza, distante unos 6 km de las instalaciones experimentales. El faenado se realizó siguiendo el procedimiento comercial habitual.

A las 24 horas del sacrificio se evaluaron la conformación y estado de engrasamiento de las canales según el Reglamento CEE nº 2237/91 (la conformación con una escala de 18 puntos y el engrasamiento de 1 a 5 con una escala de 15 puntos; cuadro 1).

Sobre la media canal izquierda se realizó la correspondiente morfometría, tomándose las siguientes medidas: longitud de la canal, ancho de la canal, longitud de la pierna, espesor máximo de la pierna, perímetro máximo de la pierna y profundidad de la pierna. Se midió la superficie del lomo y las medidas A y B del lomo; todas estas técnicas han sido descrita, por ESPEJO *et al.* (2000). Sobre la 10ª costilla se realizó la correspondiente disección según CARBALLO *et al.* (2000). Además, se calculó el índice de compacidad de la canal (peso canal caliente, kg / longitud de la canal, cm).

Posteriormente se realizó el despiece comercial de la canal según AGÜERA *et al.* (1986): carne de categoría extra, primera, segunda y tercera, cuya suma constituye la carne comercializable y grasa de recorte y hueso, estimándose la relación carne/grasa y carne/hueso. Las piezas comerciales se pesaron y se agruparon en las siguientes categorías:

Extra: solomillo.

Primera: lomo, babilla, tapa, contra, cadera, redondo, aguja, espalda y pez.

Segunda: culata de contra, llana, morcillos y brazuelos.

Tercera: falda y diafragma, filete de rellenar, pescuezo, costillar, pecho, recortes y trapillos.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa SPSS 11.0 para Windows (SPSS, 2003). El efecto del tratamiento sobre las variables estudiadas se analizó mediante análisis de varianza. Para

Cuadro 1. Sistema SEUROP de clasificación de canales
Table 1. SEUROP system carcass classification

Conformación	Nota	P-	P	P+	O-	O	O+	R-	R	R+	U-	U	U+	E-	E	E+	S-	S	S+
Calificación		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Engrasamiento	Nota	1-	1	1+	2-	2	2+	3-	3	3+	4-	4	4+	5-	5	5+			

estimar la significación de las diferencias entre los distintos tratamientos se utilizó el método de mínimos cuadrados, provisto por el procedimiento GLM, considerando la suma de cuadrados tipo III. La relación entre las diferentes variables fue analizada a través del coeficiente de correlación de Pearson.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos sobre el peso vivo, ganancia media diaria e índice de transformación se encuentran en el cuadro 2. No se observan diferencias significativas entre tratamientos en los parámetros productivos. En la bibliografía se encuentran trabajos y conclusiones en direcciones opuestas, dependiendo en la mayoría de los estudios del fármaco empleado y su dosis. Así ANDERSON *et al.* (1989), FABRY y SOMMER (1990), empleando ß agonistas como la Ractopamina y Cimaterol, demostraron que aumentando la dosis mejoraba la conversión alimenticia, la ganancia media diaria y el rendimiento de las canales. En cambio BERGE *et al.* (1993) encontraron que los resultados que obtenían por el empleo de clenbuterol dependían del tiempo de administración y del sexo de animal. Sobre vacas Frisonas GARSSEN *et al.* (1995), empleando clenbuterol y salbutanol en dietas ricas en proteína bruta (19,8%) y en grasa bruta (19,7%) (siendo ésta un sustituto lácteo), encontraron unos resultados superiores a los demostrados por otros autores, atribuyendo tal diferencia a la dieta empleada.

En los cuadros 3 y 4 se presentan las variables correspondientes a las medidas realizadas sobre la canal, mostrándose en forma general que los animales que recibieron clenbuterol (+ dexametasona) como tratamiento manifestaban una mejora de todas estas variables, presentando los animales implantados con hormonas (+ dexametasona) un comportamiento intermedio. Los resultados hallados en el presente trabajo concuerdan con los realizados sobre el efecto de las hormonas (PATTERSON y SALTER, 1985) los cuales observaron diferencias sig-

Cuadro 2. Peso vivo, ganancia media diaria e índice de conversión en terneros de la categoría "añojo pesado", testigo y tratados con implantes hormonales y clenbuterol + dexametasona. Media (± error estándar)

Table 2. Liveweight, average daily liveweight and convertion index in "heavy yearlings", control, hormone implanted and clenbuterol + dexamethasone. Mean (± standard error)

	Peso vivo al inicio (kg)	Peso vivo sacrificio (kg)	Ganancia media diaria a 145 días (kg/día)	Índice de conversión en 106 días (kg pienso/ kg de peso vivo)
Testigo	346,70	628,50	1,94	4,60
Hormona	334,00	651,00	2,18	4,20
Clenbuterol	353,70	635,50	1,94	4,40
Error estándar	(±19,6)	(±29,5)	(±0,15)	(±0,23)
Tratamiento	ns	ns	ns	ns

(ns) $p > 0,05$.

Cuadro 3. Efecto del tratamiento con compuestos hormonales y clenbuterol + dexametasona sobre las características de la canal en terneros de la categoría comercial añojo pesado. Media (± error estándar)

Table 3. Effect of hormone compounds and clenbuterol + dexamethasone treatments on carcass characteristics of heavy yearlings. Mean (± standard error)

	Peso canal caliente (kg)	Peso canal fría (kg)	Rendimiento canal (%)	Conformación (1-18)	Engrasamiento (1-15)	Índice compacidad (kg/cm)	Superficie lomo (cm^2)
Testigo	412,5	404,2	65,6 b	15,3	3,8 a	3,2	52,7 c
Hormona	429,1	420,5	66,0 b	15,5	3,5 a	3,3	60,2 b
Clenbuterol	436,6	427,9	68,7 a	17,5	2,5 b	3,4	66,3 a
Error estándar	(± 17,9)	(± 17,5)	(± 0,54)	(± 0,68)	(± 0,28)	(± 0,10)	(± 5,6)
Tratamiento	ns	ns	*	ns	*	ns	**

(ns): $p > 0,05$.
(*): $p \leq 0,05$.
(**): $p \leq 0,01$.
(a, b, c): letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre grupos de $p \leq 0.05$.

Cuadro 4. Efecto de los tratamientos con compuestos hormonales y clenbuterol + dexametasona sobre las medidas morfológicas de canales de terneros de la categoría añojo pesado. Media (± error estándar)

Table 4. Effect of hormone compounds and clenbuterol + dexamethasone treatments on carcass morphological measurements of heavy yearlings. Mean (± standard error)

	Longitud canal (cm)	Ancho canal (cm)	Longitud pierna (cm)	Ancho Pierna (cm)	Perímetro pierna (cm)	Profundidad pierna (cm)	Largo lomo (cm)
Testigo	130,7	62,7	83,1	32,4	130,0 b	48,0	57,9
Hormona	129,2	62,0	83,2	33,4	134,2 ab	48,2	57,3
Clenbuterol	129,1	61,7	82,2	33,6	139,8 a	49,6	57,0
Error estándar	(± 1,91)	(± 1,22)	(± 1,25)	(± 0,75)	(± 2,17)	(± 0,56)	(± 0,74)
Tratamiento	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns

(ns): $p > 0,05$.
(*): $p \leq 0,05$.
(a, b): $p \leq 0,05$.

nificativas en cuanto a las medidas de canal de bovinos, teniendo un efecto importante el sexo de los animales. En cuanto a los ß agonistas LUÑO (1995) y SANZ (1995) mencionaron que estas sustancias inciden de forma significativa en la morfometría de las canales, principalmente sobre las medidas realizadas sobre el cuarto posterior.

En este trabajo el rendimiento de canal resultó afectado significativamente ($p \leq 0,05$) por los diferentes tratamientos. El uso del clenbuterol (+ dexametasona) determinó una mejora de más de 3 puntos porcentuales en el rendimiento de canal con relación a los animales testigos los cuales no difirieron de los tratados con hormonas (+ dexametasona). En otros experimentos realizados por varios autores (FIEMS *et al.*, 1990 y SANZ, 1995) se han señalado variaciones en este parámetro de un 5-8 %, en bovinos tratados con ß agonistas, atribuyéndose a una disminución en el peso de la piel, vísceras y órganos como corazón, hígado y pulmones. Otros equipos de investigación (EISEMANN *et al.*, 1988; RISCK *et al.*, 1984) señalan que la mejora en el rendimiento de la canal estaría asociada al aumento registrado en la relación proteína/grasa del tejido magro.

La disminución del estado de engrasamiento ($p \leq 0,05$), significativa solamente en los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona), es coincidente con lo señalado por MILLER *et al.* (1986), quienes obtuvieron disminuciones de hasta un 50% en el porcentaje de grasa de la canal de vacunos de raza Hereford, Charolaise y sus cruzamientos. Tal disminución del engrasamiento no sólo se produciría en el depósito subcutáneo, sino también en los depósitos internos (SANZ, 1995).

La clasificación por conformación no resultó afectada significativamente por los distintos tratamientos evaluados, (p= 0,08), aunque existe una tendencia de mejor conformación en las canales de los animales que fueron tratados con clenbuterol (+ dexametasona); siendo estas canales calificadas dentro de la categoría superior (S), lo que mostraría un aumento en su valor comercial. Coincidiendo con GARSSEN *et al.* (1995), LUÑO (1995) y SANZ (1995), esta mejor calificación de los animales tratados con ß agonistas sería debida a la acción de estos productos sobre la hipertrofia muscular, marcada particularmente en los músculos del miembro posterior y lomo.

Las canales de los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona) presentaron un índice de compacidad de 3,4 algo mayor al obtenido por las canales del lote testigo 3,2; sin embargo estas diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas. Las canales que presentan buena conformación y un alto rendimiento en carne suelen presentar también mayores índices de compacidad (ALBERTÍ *et al.*, 2001).

Algunos autores han descrito que los ß agonistas provocan un aumento significativo de la superficie del lomo (GARSSEN *et al.*, 1993, RICKS *et al.*, 1984). Igualmente, en el presente experimento se hallaron diferencias significativas ($p \leq 0,01$) entre los tres lotes de animales, para esta variable.

En relación a las medidas morfológicas, sólo el perímetro de la pierna resultó significativamente afectado por los diferentes tratamientos, siendo los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona) los que obtuvieron valores más altos, significativamente diferentes ($p \leq 0,05$) de los animales testigos. El comportamiento de los animales que recibieron el implante hormonal (+ dexametasona) fue intermedio y no diferente estadísticamente ($p > 0,05$) de los animales testigos o de los que recibieron clenbuterol (+ dexametasona).

Nuevamente se podría encontrar la explicación en la magnitud de la hipertrofia muscular que resulta de la administración de ß agonistas (GEESINK *et al.*, 1993, LUÑO, 1995, RISCK *et al.*, 1984), siendo esta acción más notoria sobre el miembro posterior (MARTÍNEZ *et al.*, 1991), debido principalmente a que en esa localización anatómica predominan las fibras blancas, las cuales parece ser que responden a los tratamientos

con un aumento del tamaño de las miofibrillas. Como los cortes comerciales de mayor valor económico se encuentran localizados en el cuarto posterior, esta hipertrofia redundaría en un mayor valor comercial de la canal (LUÑO, 1995 y SANZ, 1995).

En el cuadro 5 se representa el efecto de los tratamientos sobre el despiece comercial. En términos generales se aprecia una ligera tendencia a la mejora en las canales provenientes de los animales tratados con agentes promotores del crecimiento en comparación

Cuadro 5. Efecto de los tratamientos con compuestos hormonales y clenbuterol + dexametasona sobre la composición comercial de las canales de terneros correspondientes a la "categoría añojo" pesado. Media (±error estándar). Los % de cada corte se refieren en relación al total de la categoría a la que pertenece, y el % de las categorías al total del despiece

Table 5. Effect of hormone compounds and clenbuterol + dexamethasone treatments on commercial composition of heavy yearling carcasses. Mean (± standard error). The percentage of each cut is referred to the total of the category that they belong to, and the percentage of the categories is referred to the total of the commercial cuts

	Testigo	Hormonas	Clenbuterol	Error estándar	Tratamiento
Extra (%)	2,7	2,6	2,8	(± 0,11)	ns
Solomillo (%)	100	100	100		ns
Primera (%)	61	62	61	(± 0,63)	ns
Lomo (%)	20,6	21,1	20,6	(± 0,48)	ns
Babilla (%)	8,8	9,7	9,9	(± 0,27)	ns
Tapa (%)	15,0	15,6	15,8	(± 0,31)	ns
Contra (%)	12,8	12,4	13,0	(± 1,09)	ns
Cadera (%)	8,6	8,7	9,1	(± 0,21)	ns
Redondo (%)	4,6	4,6	4,9	(± 0,23)	ns
Aguja (%)	17,0 a	15,4 ab	14,6 b	(± 0,67)	*
Espalda (%)	10,4	10,2	9,8	(± 0,39)	ns
Pez (%)	2,2	2,3	2,3	(± 0,11)	ns
Segunda (%)	9,3 b	10,1 a	10,2 a	(± 0,10)	***
Culata de contra (%)	20,5	21,9	20,7	(± 0,43)	ns
Llana (%)	16,4 a	14,6 b	14,7 b	(± 0,31)	**
Morcillos + Brazuelos (%)	63,1	63,5	64,6	(± 0,55)	ns
Tercera (%)	27,0	25,3	26,0	(± 0,49)	ns
Falda y Diafragma (%)	28,9	28,2	28,9	(± 0,59)	ns
Filete de rellenar (%)	3,7	3,4	3,8	(± 0,16)	ns
Pescuezo (%)	6,9	6,7	6,6	(± 0,49)	ns
Costillar (%)	24,4	26,4	25,7	(± 1,20)	ns
Pecho (%)	11,8	12,3	11,3	(± 0,34)	ns
Recortes + Trapillo (%)	24,3	23,0	23,7	(± 0,91)	ns

(ns): $p > 0,05$.
(*): $p \leq 0,05$.
(**): $p \leq 0,01$.
(***): $p \leq 0,001$.
(a, b): $p \leq 0,05$.

con los animales testigo. Así, los animales que no recibieron ningún tratamiento han presentado porcentajes ligeramente superiores de piezas de tercera categoría. Se han encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0{,}001$) sólo para la categoría segunda, siendo más altos los valores correspondientes al grupo de los animales tratados, tanto con clenbuterol (+ dexametasona) como con hormonas (+ dexametasona).

La composición tisular (disección de la costilla) en el presente trabajo resultó afectada por los distintos tratamientos (cuadro 6). Los animales que recibieron (clenbuterol + dexametasona) mostraron mayores porcentajes de músculo. Los animales que recibieron implante hormonal (+ dexametasona) fueron los que mostraron mayores porcentajes de grasa y hueso ($p \leq 0{,}05$), siendo los valores intermedios para los animales testigos.

Sobre el metabolismo de los lípidos, los β adrenérgicos provocan disminución de los depósitos de lípidos corporales y aumento del gasto energético. Este descenso de los depósitos lipídicos ha sido atribuido tanto a un aumento de la lipolisis como a una disminución de la lipogenésis (MILLER *et al.*, 1988; MOLONEY *et al.*, 1990), aunque el efecto del descenso de la lipogénesis parece ser menor que el aumento de la lipolisis. Tanto la lipolisis como la lipogénesis se darían en menor grado en la grasa intramuscular que en el tejido adiposo subcutáneo (PORTILLO *et al.*, 1992). Además, los ß agonistas son sustancias que actúan sobre el metabolismo como repartidores de energía, derivan nutrientes del tejido adiposo hacia el anabolismo muscular, notándose así la disminución en los depósitos de lípidos y el incremento en la síntesis de proteína con la correspondiente formación de músculo (WILLIAMS *et al.*, 1987 y SANZ, 1995). Respecto al desarrollo óseo, los resultados obtenidos concuerdan con los citados por MOLONEY *et al.* (1990) y SANZ (1995), en el sentido de que no se encontraron diferencias apreciables por la administración de ß agonistas.

Cuadro 6. Efecto de los tratamientos con compuestos hormonal y clenbuterol + dexametasona sobre la composición tisular de la 6ta costilla de terneros correspondientes a la categoría "añojo pesado". Media (± error estándar)

Table 6. Effect of hormone compounds and clenbuterol + dexamethasone treatments on tissue composition of the 6th rib of heavy yearlings. Mean (± standard error)

	Grasa subcutánea (%)	Grasa intermuscular (%)	Grasa Total (%)	Hueso (%)	Músculo (%)	Desperdicios (fascia, etc.) (%)
Testigo	1,8 a	7,4 b	9,2 b	13,5 b	71,9 a	3,7
Hormona	1,9 a	8,3 a	10,2 a	16,1 a	68,2 b	3,1
Clenbuterol	1,0 b	5,6 c	6,6 c	14,1 b	74,7 a	1,5
Error estándar	(± 0,38)	(± 0,97)	(± 1,20)	(± 0,40)	(± 1,40)	(± 0,70)
Tratamiento	*	*	*	*	*	ns

(ns): $p > 0{,}05$.
(*): $p \leq 0{,}05$.
(a, b, c): $p \leq 0{,}05$.

En cambio, ha sido demostrado que los compuestos hormonales como la testosterona favorecen el crecimiento del hueso y los estrógenos actúan más específicamente sobre el metabolismo del calcio y fósforo (KOLB, 1976), favoreciendo el desarrollo y la maduración ósea debido al aumento en la producción de matriz por los osteoblastos y a la supresión de la diferenciación celular en osteoclastos (RUCKEBUSCH *et al.*, 1994). Además, se ha demostrado que el uso de compuestos estrogénicos en machos enteros llevaría a que estos animales depositasen más grasa, presentando una relación carne/grasa menor que aquellos que no han recibido hormonas estrogénicas (PATTERSON y SALTER, 1985). Esto sería debido al comportamiento de los diferentes sexos frente a la administración de las diversas hormonas, de modo que las hormonas "masculinas" (testosterona) en las hembras causan un efecto anabolizante aumentando la masa muscular, mientras que en el mismo sexo las hormonas "femeninas" (estrógenos) aumentarían los depósitos de lípidos; generalmente los estrógenos actúan como redistribuidores de los depósitos lipídicos independientemente del sexo y la testosterona es una hormona anabolizante.

Sobre el uso de la dexametasona, HUANG *et al.* (2000) concluyeron que cuando se emplea dexametasona más clenbuterol, el efecto de este último sobre el metabolismo muscular disminuye a causa de que la dexametasona sobre el tejido muscular provoca una disminución del número de ß adrenoreceptores (que modifican y alteran el "turnover" o tasa de recambio proteico). Así mismo AGBENYEGA y WAREMAN (1992) demostraron que la dexametasona sobre el tejido muscular posee efecto de tipo catabólico, y a medida que aumentan los niveles de clenbuterol estos efectos disminuyen hasta el punto en que se llega a apreciar un ligero aumento de la masa muscular. También varios grupos de investigadores (YORKE, 1967; BRETHOUR, 1972; DICKE *et al.*, 1974) han analizado el efecto de la dexametasona sobre el metabolismo lipídico, demostrando que los efectos sobre el tejido adiposo son dosis dependientes, y que es el depósito de grasa intramuscular el más afectado; así demostraron que aplicando 10 mg de dexametasona por un período cercano a 90 días, el depósito de grasa intramuscular aumenta significativamente. Pero en nuestro estudio sólo se empleó la dexametasona como sustancia borrador, además que se administró conjuntamente con los promotores de crecimiento y con dosis y periodos de aplicación diferentes a los trabajos comentados anteriormente.

Por otra parte, valorando los efectos sobre la composición tisular de la canal (cuadro 7) los tratamientos aplicados no afectaron de forma significativa ($p > 0,05$) al porcentaje total de carne vendible, grasa de recorte, ni hueso, pero hay que remarcar la tendencia que presentaron las canales de los animales tratados con clenbuterol (+ dexametasona) en cuanto a su composición ($p = 0,06$ y $0,13$, para el porcentaje de carne vendible y grasa de recorte, respectivamente), determinando así un ligero aumento ($p = 0,10$) de la relación carne vendible / grasa de recorte. Estos resultados son consecuentes con la mejora en el valor comercial de la canal, lo que estaría de acuerdo con los resultados de diferentes autores (ANDERSON *et al.*, 1989; BAKER *et al.*, 1984; SCHIAVETTA *et al.*, 1990), que indican disminuciones apreciables en los depósitos grasos de diferentes especies animales tratadas con compuestos ß agonistas, como ya hemos comentado anteriormente. En todo caso, también hay que recordar que la raza Blonde d'Aquitaine es una raza netamente especializada en la producción de carne, y sería de esperar que la respuesta al uso de compuestos hormonales y ß agonistas sea menor que en las razas doble propósito, o en razas lecheras.

Tabla 7 Efecto del tratamiento con compuestos hormonales y clenbuterol + dexametasona sobre la composición tisular de la canal de terneros pertenecientes a la categoría añojo pesado. Media (± error estándar)

Table 7. Effect of hormone compounds and clenbuterol + dexamethasone treatments on tissue composition of the carcass of heavy yearlings. Mean (± standard error)

	Total carne vendible (%)	Grasa recorte (%)	Hueso (%)	Relación Carne/grasa	Relación Carne/hueso
Testigo	79.8	5.5	14.7	14.0	5.5
Hormona	79.3	5.8	14.9	13.8	5.3
Clenbuterol	81.7	4.3	14.0	19.0	5.8
Error estándar	(± 0.59)	(± 0.5)	(± 0.41)	(± 1.68)	(± 0.18)
Tratamiento	ns	ns	ns	ns	ns

(ns): $p > 0.05$.

Conclusiones

En términos generales, los efectos de los diferentes agentes promotores del crecimiento fueron evidentes en la canal, destacándose en algunos parámetros la acción del clenbuterol (+ dexametasona), mientras que los compuestos hormonales (+ dexametasona) en muchos casos no dieron diferencias entre sus canales con las del grupo de animales testigo. Así los animales que recibieron clenbuterol (+ dexametasona) en su dieta tendieron a presentar un mayor rendimiento, un aumento en la cantidad de músculo, una ligera disminución en la cantidad de grasa (particularmente subcutánea) y una tendencia manifiesta a aumentar la superficie del lomo, sobre todo por un incremento en su profundidad.

El uso de promotores del crecimiento + dexametasona en razas cárnicas y en animales de tipo pesado produce un efecto positivo sobre la calidad del producto, más notable en el caso de los ß agonistas que en los agentes de tipo hormonal, pero esta mejora de la morfología y la variación de la composición tisular, por si solas difícilmente pueden ser indicadoras, en la inspección veterinaria, del uso fraudulento de estas sustancias.

Agradecimientos

Al Ministerio de Sanidad y Consumo por su financiación a través de un convenio con la Universidad de Zaragoza.

A Pardos, J.J. y Lahoz, F. por su asistencia técnica.

A Mercazaragoza y los servicios veterinarios de la D.G.A. por su asistencia técnica.

Bibliografía

AGBENYEGA E.T., WAREMAN A.C., 1992. Effect of clenbuterol on skeletal muscle atrophy in mice induced by the glucocorticoid dexamethasone. Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol. 102 (1): 141-145.

AGÜERA E., VIVO J., MONTEVERDE C., 1986. Sistemática del despiece de la canal del vacuno: referencias

anatómicas y piezas cárnicas resultantes. En: "Bases anatómicas, tecnológicas y comerciales de la carnización del vacuno", de Sandoval, J. y col. pp: 109-123 . Editado por la Faculatad de Veterinaria de Cáceres y la Conserjería de Sanidad y Consumo, Junta de Extremadura.

ALBERTÍ P., LAHOZ F., TERRA R., JAIME S., SAÑUDO C., OLLETA J.L., CAMPO M.M., PANEA B., PARDOS, J.J., 2001. Producción y rendimiento carnicero de siete razas bovinas españolas faenadas a diferentes pesos. Informaciones Técnicas 101: 1-15.

ANDERSON D.B., VEENHUIZEN E.L., WAGNER J.F., WRAY M.I., MOWREY D.H., 1989. The effect of ractopamine hydrocloride on nitrogen retention, growth perfomance and carcass composition of beef cattle. Journal of Animal Science 67 (Suppl.1): 222 (A).

BAKER P.K., DALRYMPLE R.H., INGLE D.L., RICKS C.A., 1984. Use of a ß- adrenergic agonist to alter muscle and fat deposition in lambs. Journal of Animal Science 59 (5): 1257-1261.

BERGE PH., CULIOLI J., OUALI A., PARAT M.F., 1993. Performance muscle composition and meat texture in veal calves administered a ß agonist (Cleanbuterol). Meat Science 33: 191-206.

BRETHOUR J.R., 1972. Effects of acute injections of dexamethasone on selective deposition of bovine intramuscular fat. Journal of Aninmal Science 35: 351-360.

CARBALLO J.A., MONSERRAT L., SANCHEZ L., 2000. Composición de la canal bovina. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de Ciencia y Tecnología – INIA. Madrid, España. pp: 106-123.

CASTRO T., JIMENO V., 1997. Aditivos y su problemática pp. 351-366. En: Vacuno de carne: aspectos claves. Ed. Mundi-Prensa.

CHIKOU F.H., MOLONEY A.P., ALLEN P., QUIRKE J.F., AUSTIN F.H., ROCHE J.F., 1993. Long-term effects of cimaterol in Friesian steers: I. Growth, feed efficiency, and selected carcass traits. Journal of Animal Science 71: 906-913.

CUBERO G., 1998. Sistema de detección de animales sospechosos de residuos en carnes en matadero. XI Jornadas Nacionales de Inspección y Calidad de la Carne. Toledo, Noviembre 1998.

DAWSON J.M., BUTTERY P.J., GILL M., BEEVER D.E., 1990. Muscle composition of steers treated with the ß agonist, cimaterol. Meat Science 28: 289-297.

DICKE B.D., FARLIN S.D., ARTHAUD V.H., 1974. Effect of dexamethasone on intramuscular fat content. Journal of Animal Science 39: 168 (abstract).

EISEMANN J.H., HUNTINGTON G.B., FERRELL C.L., 1988. Effects of dietary clenbuterol on metabolism of the hindquarters in steers. Journal of Animal Science 66 (2): 342-353.

ESPEJO M., GARCÍA S., LÓPEZ M., IZQUIERDO M., ROBLES A., COSTELA A., 2000. Morfología de la canal bovina. En: Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Ministerio de Ciencia y Tecnología – INIA. Madrid, España. pp: 69-81.

FABRY J., SOMMER M., 1990. Effects of cimaterol on growth and carcass composition of culled cows. Journal of Animal Science 68 (Suppl.1): 332 (A).

FIEMS L.O., BUTS B., BOUCQUÉ CH.V., DEMEYER D.I., SOMMER M., 1990. Effect of a ß agonist on meat quality and myofibrillar protein fragmentation in bulls. Meat Science 27: 29-39.

GARSSEN G.J., GEESINK G.H., HOVING-BOLINK A.H., VERPLANKE J.C., 1995. Effects of dietary clenbuterol and salbutamol on meat quality in veal calves. Meat Science 40: 337-350.

GEESINK G.H., SMULDERS F.J.M., VAN LAACK H.L.J. M., VAN DER KOLK J.H., WENSING T.H., BREUKINK H.J., 1993. Effects on meat quality of the use of clenbuterol in veal calves. Journal of Animal Science 71: 1161- 1170.

GROTT M.J., SCHILT R., OSSENKOPPELE J.S., BERENDE P.L., HAASNOOT W., 1998. Combinations of growth promoters in veal calves: consequences for screening and confirmation methods. Zentralbl Veterinarmed A 45 (6-7): 425-440.

HUANG H., GAZZOLA C., PEGG G.G., SILLENCE M.N., 2000. Differential effects of dexamethasone and clenbuterol on rat growth and on $ß_2$ adrenoceptors in lung and skeletal muscle. Journal of Animal Science 78: 604-608.

KOLB E., 1976. Fisiología general de los músculos y del tejido óseo. In: Fisiología Veterinaria. pp. 873-912. Ed. Acribia, España.

LÓPEZ BOTE C., VENTANAS J., BURGOS J., 1989. Influencia de los esteroides gonadales y otros agentes anabolizantes, los tireostáticos y los repartidores de energía en la composición de la canal y en la calidad de la carne. Medicina Veterinaria 6: 135-151.

LUÑO M., 1995. Correlación del perfil de textura con las características musculares y de la carne de vacuno tratado con clenbuterol. Tesis de Licenciatura. Universidad de Zaragoza. Facultad de Veterinaria. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. 150 pp.

MARTÍNEZ J.A., PORTILLO M.P., LARRALDE J., 1991. Anabolic actions of a mixed ß adrenergic agonist on nitrogen retention on protein turnover. Hormonal Metabolic Research 23: 590-593.

MILLER M.F., GARCÍA D.K., COLEMAN M.E., EKEREN P.A., SMITH S.B., 1986. Non-esterified and glyceride-fatty acid synthesis in bovine adipose tissue from heifers and clenbuterol. Journal of Animal Science 63 (Suppl 1): 236 (A).

MILLER M.F., GARCIA D.K., COLEMAN M.E., EKEREN P.A., LUNT D.K., WAGNER K.A., PROCKNOR M., WELSH JR. T.H., SMITH B.S., 1988. Adipose tisue, longissimus muscle and anterior pituitary growth and function in clenbuterol-fed heifers. Journal of Animal Science 66 (1): 12-20.

MOLONEY A.P., ALLEN P., ROSS D.B., OLSON G., y CONVEY E.M., 1990: Growth, feed efficiency and carcass composition of finising Fresian steers fed the ß adrenergic agonist L-644,969. Journal of Animal Science 68: 1269-1277.

PATTERSON R.L.S., SALTER L.J., 1985. Anabolic agents and meat quality: a review. Meat Science 14: 191-200.

PORTILLO M.P., GRACIA-CALONGE M., MARTINEZ J.A., 1992. Estudio del efecto lipolítico de agonistas ß adrenergicos con potencial anabolico. Feria Inetrnacional Ganadera. ZAFRA, Mayo 1992.

RICKS C.A., DALRYMPLE R.H., BAKER P.K., INGLE, D.L., 1984. Use of a ß-agonist to alter fat deposition in steers. Journal of Animal Science 59 (5): 1246-1255.

RUCKEBUSCH Y., PHANEUF L.P., DUNLOP R., 1994. Hormonas ováricas. In: Fisiología de pequeñas y grandes especies. pp: 699-712. Ed. Manual Moderno, Mexico.

SANZ PÉREZ B., 1995. Problemas de Salud Pública ocasionados por el empleo en la alimentación animal del clenbuterol y otros agentes promotores del crecimiento. (Primera parte). Eurocarne 37: 23-34.

SCHIAVETTA M.M., MILLER M.F., LUNT D.K., DAVIS S.K., SMITH B.S., 1990. Adipose tissue cellularity and muscle growth in young steers fed the ß adrenergic agonist clenbuterol for 50 days and after 78 days of withdrawal. Journal of Animal Science 68 (11): 3614-3623.

SILLENCE, N.M., MATTHEWS M.L., BADRAN T.W., PEGG G.G., 2000. Effects of clenbuterol on growth in underfed cattle. Australian Journal of Agricultural Research 51: 401-406.

SPSS, 2003. SPSS for windows version 11.0. Chicago IL. SPSS Inc.

U.S.D.A., 1998. Added as doping mask. http://www.mad-cow.org/~tom/bam_on_US_beef.html

WILLIAMS P.E.V., PAGLIANI L., INNES G.M., PENNIE, K., HARRIS C.I., GARTWAITE P., 1987. Effects of a ß agonist (clenbuterol) on growth, carcass composition., protein and energy metabolism of veal calves. British Journal of Nutrition 57: 417-428.

YORKE R.E., 1967. The influence of dexamethasone on adipose tissue metabolism in vitro. Journal of Endocrinology 39: 329.

(Aceptado para publicación el 30 de enero de 2004).

ITEA (2004), Vol. **100A N.° 1**, 43-55

ACTIVIDAD DE LOS PRINCIPALES ENZIMAS ANTIOXIDANTES DURANTE EL PERIODO DE OREO DE CULONES DE LA RAZA ASTURIANA DE LOS VALLES

A. Coto-Montes[1], B. Caballero, V. Sierra, I. Vega-Naredo, C. Tomás-Zapico, R. Hardeland*, D. Tolivia, F. Ureña, M.J. Rodríguez-Colunga**

Departamento de Morfología y Biología Celular, Universidad de Oviedo, E-33006 Oviedo, Asturias, España

* The Institut für Zoologie und Anthropologie der Universität, D-37073 Göttingen, Germany

** From EASA (Empresa Asturiana de Estudios Agrarios, S.A.), Gijón, Asturias, España

RESUMEN

En este trabajo se han medido las actividades de tres de los principales enzimas antioxidantes: la superóxido dismutasa, la catalasa y glutatión reductasa, así como el daño oxidativo de lípidos y proteínas a lo largo del periodo de oreo, mediante medidas efectuadas cada seis horas en el *Longissimus dorsi* de animales pertenecientes a la raza de ganado vacuno Asturiana de los Valles. Al mismo tiempo, se relacionaron los resultados obtenidos con mediciones a las mismas horas de los valores de pH y temperatura de las canales almacenadas. Los resultados obtenidos mostraron que la actividad de la glutatión reductasa permanecía estable a lo largo de las 24 horas de almacenamiento. La superóxido dismutasa y la catalasa por el contrario, mostraron un incremento de actividad durante las primeras 12 horas inmediatas al sacrificio, mientras que el pH decrecía hasta valores de 6,0 y la temperatura de las canales llegaba hasta valores próximos a 15° C. Los cambios observados en los enzimas antioxidantes se correlacionaron perfectamente con los encontrados en daño de lípidos y proteínas. Un descenso en la actividad de los enzimas la superóxido dismutasa y la catalasa después de las primeras 12 horas de almacenamiento trajo consigo un incremento significativo a las 18 horas del daño en las proteínas. Sin embargo, el daño de lípidos no se vio alterado durante estas primeras 24 horas, por lo que, este proceso debe tener lugar en estadios más tardíos de maduración de las canales. Procedimientos futuros encaminados a mejorar la calidad de la carne y su terneza deberían tener en cuenta estos datos sobre destrucción oxidativa de macromoléculas ya que este trabajo muestra que los enzimas antioxidantes están involucrados en la evolución de las proteínas *post-mortem*.

Palabras clave: *Post-mortem* temprano, Radicales libres, Daño de proteínas, Lipoperoxidación, Vacuno.

1. Autora a la que debe dirigirse la correspondencia (acoto@correo.uniovi.es).

SUMMARY

MAIN ANTIOXIDANT ENZYMES ALONG EARLY *POST-MORTEM* IN ASTURIANA DE LOS VALLES CATTLE BREED

Three enzymes of the antioxidant system [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR)] as well as oxidative damage of proteins and lipids were measured every 6 hours in *post-mortem Longissimus dorsi* from Asturiana de los Valles, Spanish cattle breed, during a 24-hour period of storage at 4°C. Concomitantly, we followed changes in meat temperature and pH. Glutation reductase activity remained stable for 24 h of storage. Superoxide dismutase and catalase activities rose within the first 12 hours *post- mortem*, while the pH was decreasing to 6,0 and temperature to somewhat above 15° C. The changes in antioxidant enzymes were reflected by the oxidative damage of proteins and lipids. Oxidative modification of proteins increased after 18 hours, when superoxide dismutase and catalase dropped. No rise in lipid peroxidation was observed within 24 h. Therefore, this process should mainly take place during later stages of ageing. Future procedures for improving meat quality and tenderness should consider these informations on oxidative destruction of biomolecules.

Key words: Early *post-mortem*, Free radicals, Protein damage, Lipid peroxidation, Beef.

Introducción

Asturias por su tradición socio-económica, por su clima y su suelo ha favorecido el desarrollo de una cabaña de ganado vacuno autóctona "Asturiana de los Valles". Las directrices de la Unión Europea han inspirado el que esta cabaña habitualmente dedicada a leche se haya transferido a la obtención de carne de calidad. Sin embargo, la Unión Europea exige cada vez más rigurosos controles, no sólo referidos a la alimentación del animal sino también al tratamiento de las canales. La legislación española señala la necesidad de que las canales sean mantenidas a 4° C durante las 24 horas posteriores al sacrifico.

Las cualidades organolépticas de la carne, de gran interés para el consumidor, están seriamente afectadas por los procesos que ocurren inmediatamente antes y después de la muerte del animal: unos fisiológicos que tienen lugar durante los últimos días de vida del animal y otros ya en las canales durante las primeras horas *post-mortem*. El efecto de estos procesos ha sido estudiado fundamentalmente en relación con la glucolisis anaerobia, en particular, el catabolismo de transformación de la glucosa en ácido láctico (MARSH, 1993). La tasa de consumo de ATP determina el índice de glucolisis *post-mortem* y, así, la fosfofructokinasa y, en menor grado, la fosforilasa juegan los principales papeles en el control del nivel de los metabolitos glucolíticos (POTTHAST *et al.*, 1977).

Se han observado importantes variaciones en la glucolisis entre diferentes animales e incluso entre diferentes localizaciones en canales de ganado vacuno (O'HALLORAN *et al.*, 1997). De acuerdo con KAUFFMAN y MARSH (1987), la tasa de glucolisis dentro de las primeras horas después del sacrificio parece ser determinante para la calidad final de la carne, sin embargo esta tasa varía dentro de un amplio rango de forma inexplicable. La mayor o menor extensión de la glucolisis es uno de los factores determinantes de la terneza final del producto debido al efecto que sobre este proceso tiene la tem-

peratura y el pH. Es conocido además, que la glucólisis influye sobre las actividades de los enzimas proteolíticos (MARSH, 1993). A su vez, la glucolisis y los cambios asociados a la glucolisis se ven afectados por la velocidad de enfriamiento de las canales y sus consecuencias sobre el inicio del rigor.

El periodo inmediato al sacrificio, por lo anteriormente expuesto, parece ser de crítica importancia para la obtención de la terneza de la carne. Más tarde, el periodo de maduración se encargará de ultimar el grado de terneza, siendo éste un periodo determinado por la extensión de la proteolisis, en la cual, las calpaínas juegan un papel principal (UYTTERHAEGEN *et al.*, 1994; WHEELER y KOOHMARAIE, 1994; RONCALES *et al.*, 1995).

A pesar de su indiscutida importancia, los procesos anteriormente mencionados no son capaces de explicar, por sí solos, todos los cambios que se producen en las fibras hasta llegar a la obtención de una carne de calidad con la terneza deseada. Las modificaciones que se van produciendo en las biomoléculas y la destrucción que algunas de ellas sufren debido a modificaciones oxidativas, son procesos conocidos desde hace años y a los que sin embargo no se les ha dado la importancia que merecen en este campo. Estos procesos oxidativos deben contribuir a la degradación y descomposición del material con consecuencias obligadas sobre la calidad y textura de la carne.

Las reacciones de radicales libres implicadas en los procesos oxidativos que se producen durante la rotura celular en la carne o durante el periodo de refrigeración que soportan las canales en oreo, son similares a aquellos que padecen en tejidos enfermos, dañados o envejecidos (DONNELLY y ROBINSON, 1995).

Al mismo tiempo, aunque los cambios *post-mortem* ocurridos en la carne motivados por mecanismos precisos mediados por radicales han sido pobremente explicados, se sabe que los radicales libres son los responsables de la oxidación de aquellos componentes de la carne que van a dar lugar a parámetros de calidad de la carne de tal importancia como son el color, el sabor, el aroma y/o los valores nutricionales de los productos alimenticios (DONNELLY y ROBINSON, 1995).

Estos datos unidos al hecho de que se sabe que muchos enzimas mantienen su actividad durante el periodo temprano de refrigeración *post-mortem* (primeras 24 horas después del sacrificio) han dado lugar al presente trabajo. Nuestra intención ha sido estudiar la duración y conservación de la protección antioxidante con la que cuenta la carne a lo largo de este periodo y la relación que existe entre ésta, determinada mediante el estudio de la actividad de los principales enzimas antioxidantes, y la temperatura y el pH de la canal a lo largo de estas 24 horas. Para este propósito se ha seleccionado carne procedente de una cabaña de vacuno español para conocer más en profundidad las variaciones bioquímicas y fisico-químicas a lo largo del periodo *post mortem* en que son mantenidas las canales y, en particular, el papel que juegan los enzimas antioxidantes, con vistas a mejorar la calidad final de la carne.

Material y metodos

Animales

Animales de entre 14 y 18 meses de edad (n = 9) pertenecientes a la raza "Asturiana de los Valles" con un peso por encima de 250 kg, alimentados durante los cinco primeros meses de vida con leche materna y, posteriormente, en alimentación intensiva con pienso hasta el momento del sacrificio, fueron sacrificados en el Matadero de Avilés (Asturias, España). Las canales fueron

transferidas a cámaras refrigeradas a 4° C a lo largo de las primeras horas después del sacrificio. Los datos de temperatura y pH fueron obtenidos del *Longissimus dorsi* (LD) mediante una incisión con escalpelo en la cual se insertó un electrodo aproximadamente 10 cm en el interior del músculo usando un pHmetro y termómetro digital (HL 8424 Hanna Instruments), las medidas se obtuvieron cada seis horas durante las primeras 24 horas *post-mortem.*

Las muestras utilizadas para los ensayos enzimáticos y el estudio del daño en proteínas y lípidos fueron obtenidas, también a su vez del LD cada seis horas mediante una profunda incisión en el músculo con un cuchillo de doble hoja.

Ensayos enzimáticos

Las muestras extraídas de *Longissimus dorsi* fueron inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a –70° C. En el momento de iniciar los análisis, el tejido fue descongelado y homogeneizado en 50 mM de tampón fosfato a pH 7,5 (1:10 peso/volumen) utilizando un homogeneizador de cristal Potter-Elvehjem con vástago automatizado y recubierto de Teflón. A continuación las muestras se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 x g. Los sobrenadantes recogidos se utilizaron para realizar los siguientes ensayos enzimáticos:

• *La catalasa (CAT, EC 1.11.1.6).* La actividad enzimática fue medida de acuerdo a LUBINSKY y BEWLEY (1979). La mezcla de incubación contenía H_2O_2 como sustrato más el tejido homogeneizado. Se midió la destrucción de H_2O_2 durante 4 minutos a 230 nm de longitud de onda. Los resultados se expresaron como µmoles de H_2O_2 consumidos / (mg de prot * min).

• *La superoxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1)* fue realizado siguiendo el método de MARTIN *et al.* (1987); la mezcla de reacción se componía de hematoxilina como sustrato y tejido homogeneizado; la oxidación de la hematoxilina se siguió durante 10 minutos a 560 nm. El resultado se expresó como unidades de SOD/ mg de prot.

• *La glutation reductasa (GR, EC 1.6.4.2)* fue determinada siguiendo el protocolo de KUM-TATT *et al.* (1975), la oxidación de NADPH + H^+ fue seguida durante 5 minutos a una longitud de onda de 340 nm. Los resultados se expresaron como nanomoles de NADPH consumidos/(mg de prot * min).

La concentración de proteínas, en todos los casos, fue calculada siguiendo el protocolo descrito por BRADFORD (1976).

Daño de lípidos y proteínas

• *La lipoperoxidación (LPO)* fue medida por determinación de la cantidad de malondialdehido (MDA) y 4-hidroxialquenal (4HDA). Cada muestra fue homogeneizada mediante un homogeneizador igual al descrito anteriormente (Potter-Elvehjem) en una dilución 1:10 en tampón Tris-HCl frío, pH 7,4. Las partículas pesadas se eliminaron del homogeneizado por centrifugación durante 10 minutos a 3000 x g. La cantidad de MDA y 4HDA formada fue determinada en los sobrenadantes utilizando un kit para ensayos de Lipoperoxidación de Calbiochem (No 437634) basado en la reacción de condensación del cromógeno 1-metil-2-fenilindol con MDA y/o 4HDA. Los cromóforos estables fueron determinados a 586 nm. Los resultados se expresaron como nanomoles (MDA + 4HDA)/mg prot.

• *Las proteínas carboniladas (PD)* fueron determinadas a partir del método desarrollado por LENZ *et al.* (1989), modificado posteriormente por FAGAN *et al.* (1999).

Análisis estadísticos

Los datos se presentaron como media ± desviación estándar media calculada a partir de tres réplicas de cada experimento, en cada punto de maduración y para cada animal; cada experimento, a su vez, se llevó a cabo con tres muestras procedentes de cada animal. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante un análisis de la varianza de un factor (ANOVA), debido a la distribución normal de los grupos establecidos, seguido, en los casos en los que se detectaron diferencias significativas, de un test T de Student para detectar entre qué elementos se presentaban estas diferencias significativas.

Resultados

Los datos muestran un esperable descenso en la temperatura de las canales desde el momento del sacrificio (38,8 ± 0,6 °C) hasta 24 horas más tarde (5,23 ± 0,21 °C) (figura 1; arriba) con diferencias significativas entre cada uno de los puntos (*). Un descenso concomitante fue observado al medir el pH desde valores de 6,52 ± 0,01 hasta 5,54 ± 0,06 (figura 1; abajo), con diferencias significativas encontradas entre el punto 0 y todos los demás valores (*).

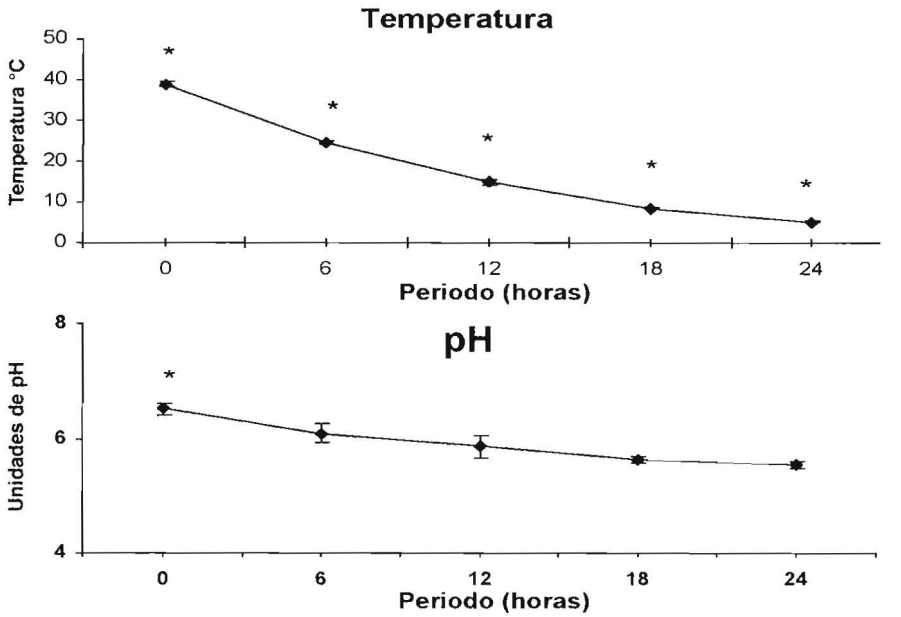


Figura 1. Cambios en la Temperatura (arriba) y el pH (abajo) en el músculo *Longissimus dorsi* de la raza "Asturiana de los Valles" a lo largo de las primeras 24 horas de almacenamiento a 4 °C. Líneas verticales: desviación estándar media. Diferencias significativas (*) en 24 h respecto al resto de periodos.

Figure 1. Changes in temperature (top) and pH (bottom) of Asturiana de los Valles breed Longissimus dorsi *along first 24 h with storage at 4°C. Bars: s.e.m. (*) Statistical differences of period 24 h vs the other periods.*

Actividades de enzimas antioxidantes

Después del sacrificio, la actividad de los enzimas superóxido dismutasa y catalasa fue aumentando continuamente hasta las 12 horas *post-mortem*. Sin embargo, las gráficas de ascenso de actividad fueron remarcablemente diferentes en ambos enzimas; así, en la superóxido dismutasa se observó un lento pero continuo incremento hasta alcanzar un máximo a las 12 horas (**) (figura 2; arriba). La catalasa mostró un incremento retrasado en el tiempo con respecto a la superóxido dismutasa que, sin embargo, terminó en un pico sorprendentemente acentuado a las 12 horas (***) (figura 2; medio). A partir de este punto, ambas actividades comenzaron a descender hasta volver a valores iniciales al cabo de las siguientes 12 horas.

Con respecto a la actividad de la glutatión reductasa no se observaron diferencias significativas (NS) a lo largo de todo el periodo de evaluación, aunque se observó un ligero incremento en actividad entre las horas 0 y 6 h después del sacrificio (figura 2; abajo)

Daño en proteínas y lípidos

El daño oxidativo de proteínas (PD) (figura 3; arriba), expresado como proteínas carboniladas), mostró una tendencia, no significativa, de incremento del daño durante las 6 primeras horas, que se mantuvo estable hasta las 18 h, a partir de las cuales el incremento fue más notable. Al cabo de 24 horas de almacenamiento refrigerado, sin embargo, sí se observó un aumento significativo del daño (**) en comparación con el resto de grupos.

EL daño de lípidos (LPO) decreció a lo largo de las primeras 12 horas *post-mortem* con un descenso significativo a las 6 horas (** vs. 12, 18 y 24), que no alcanzó nuevamente los valores iniciales a lo largo de las restantes 18 horas que duró el experimento (figura 3; abajo).

Discusión

Hasta el momento, el único sistema para poder verificar si realmente las canales han cumplido la normativa de refrigeración a 4ºC es la medición de pH, la cual es a todas vistas insuficiente, al verse influido por muchos otros factores como por ejemplo el estrés que soportase el animal al sacrificio. En el momento de despiece del animal, el tejido muscular se ve sometido a una situación de estrés oxidativo al quedar el tejido en contacto más directo con el oxígeno ambiental aumentando así la producción de radicales libres en las canales. De esta forma, la señal de activación de los enzimas antioxidantes debe comenzar a producirse al despedazar el animal. Debido a ello, se han estudiado los enzimas antioxidantes a lo largo de las primeras 24 horas para observar la variación de sus niveles durante el mantenimiento de la canal refrigerada.

Resolver el problema de la inconsistencia de la calidad de la carne es una prioridad de la industria cárnica. La obtención de terneza se encuentra influenciada por gran número de parámetros entre los que se incluye, el peso, el estrés del animal, la época del sacrificio, así como, el periodo de oreo y la maduración. Campo (1999) llevó a cabo un estudio en siete razas españolas de ganado vacuno observando las variaciones de terneza en función de la raza y el tiempo de maduración. Después de tres días *post-mortem*, los mejores valores obtenidos correspondieron a la raza "Asturiana de los Valles", aunque, al cabo de 14 días, fue esta misma raza la que presentó la peor puntua-

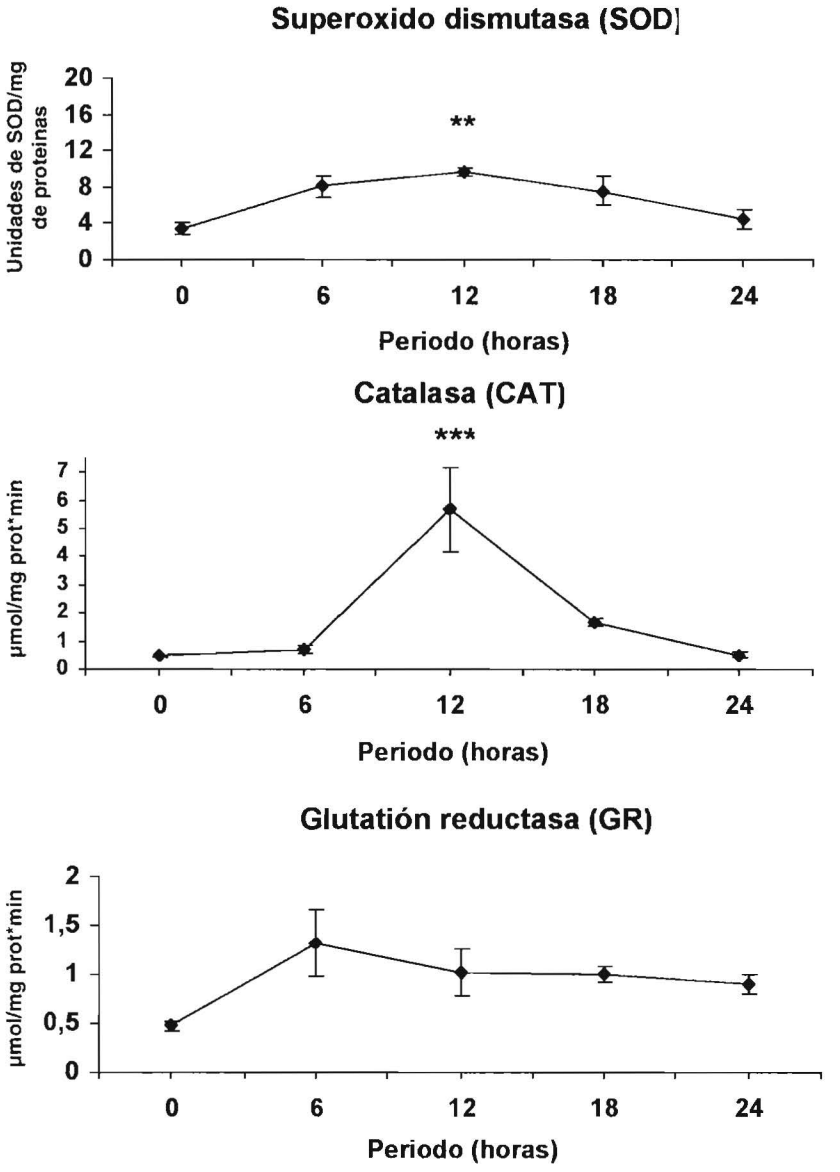


Figura 2. Variación temporal de los principales enzimas antioxidantes: la superóxido dismutasa (SOD) (**) Periodo 12 h presenta diferencias significativas respecto a los periodos 0 y 24 h (arriba); la catalasa (CAT) (***) Periodo 12 h presenta diferencias significativas respecto a los otros periodos (medio); la glutatión reductasa (GR) (abajo) en el músculo *Longissimus dorsi* de la raza "Asturiana de los Valles" durante las primeras 24 horas *post-mortem* a 4 °C (NS). Lineas verticales: desviación estándar media.

Figure 2. Temporal variation in the activities of main antioxidant enzymes: Superoxide dismutase (SOD) (**) Period 12 h is statistically different from periods 0 and 24 h (top); Catalase (CAT) (***) Period 12 h is statistically different from the other periods (middle); Glutathione reductase (GR) (bottom) in Longissimus dorsi *of Asturiana de los Valles breed during first 24 hours* post-mortem *at 4°C (NS). Bars: s.e.m.*

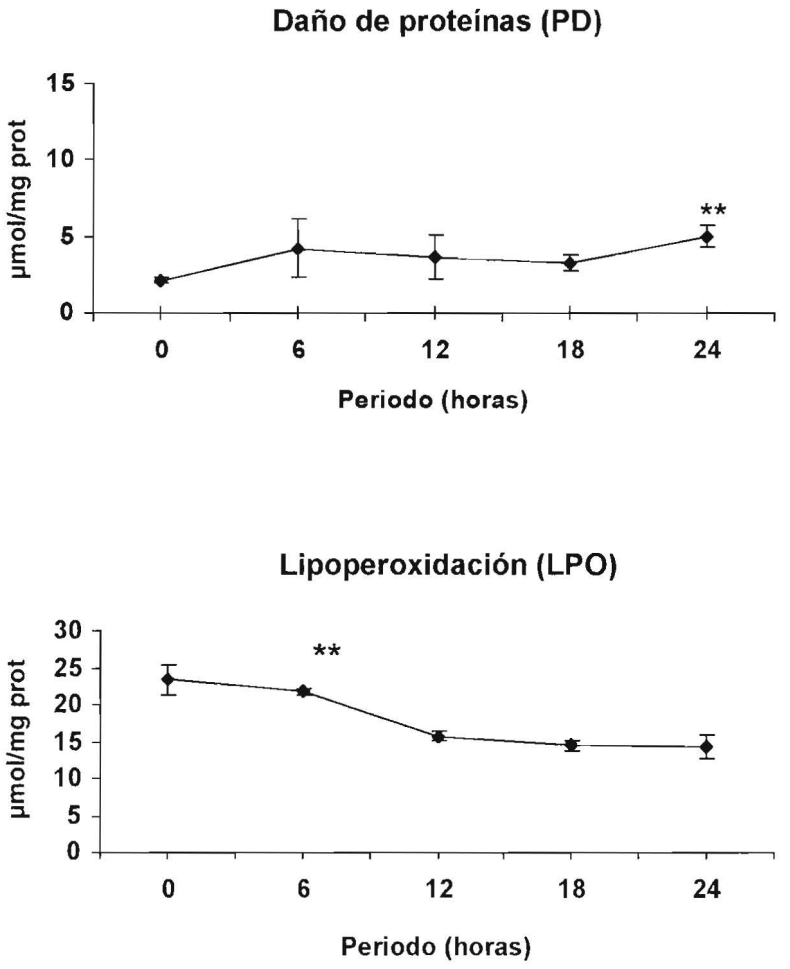


Figura 3. El Daño de proteínas (arriba) expresado como nmol de proteínas carboniladas. (**) El periodo 24 h presenta diferencias significativas respecto al periodo 0 h.
La Lipoperoxidación (LPO) (abajo) expresada como nmol de productos de peroxidación (malonaldehidos + 4-hidroxialquenos). (**) Diferencias estadísticas del periodo 6 h vs 12, 18 and 24 horas a 4ºC en el *Longissimus dorsi* de la raza "Asturiana de los Valles". Lineas verticales: desviación estándar media.

Figure 3. Protein damage (PD) (top) with ordinates as nmol of carbonyl proteins. (**) Period 24 h is statisticaly different from period 0 h. Lipid peroxidation (LPO) (bottom) ordinates as nmol of peroxidation products (malonealdehyde + 4-hydroxyalkenal). (**) Statistical differences of period 6 h vs 12, 18 and 24 hours at 4°C in Longissimus dorsi *of Asturiana de los Valles. Bars: s.e.m.*

ción con respecto al mismo parámetro; esto implica que el periodo de almacenamiento refrigerado de las canales resulta crucial para la mejora o disminución de la terneza de la carne. Por ello, establecer el tiempo mínimo adecuado de maduración para cada raza con respecto a una serie de parámetros que deben seleccionarse, es imprescindible para poder predecir la terneza de la carne antes de que ésta llegue al consumidor.

Con respecto al estrés oxidativo que existe en cada canal, nosotros hemos encontrado una gran correlación entre las actividades de SOD y CAT, mostrando ambas un pico de actividad máximo 12 horas después del sacrificio y un subsecuente declive de la actividad hasta alcanzar los valores iniciales a las 24 horas. CAT es un enzima antioxidante con baja afinidad por su sustrato y que, por lo tanto, a altas concentraciones de peróxido de hidrógeno realiza un papel más importante que la glutatión peroxidasa (COSTARIDES *et al.*, 1991). Por lo tanto, esta interrelación observada con SOD, debe implicar la formación, principalmente vía actuación de SOD, de altas cantidades de H_2O_2 en el tejido, la cual, vía actuación de CAT, se va compensando en el tiempo por destrucción de este peróxido de hidrógeno. Ya que la actividad de CAT está limitada a una estrecha ventana temporal de actuación, la prevención de la formación de radicales derivados del H_2O_2 es también limitada. Esta interpretación está apoyada por otros datos que muestran el drástico incremento de radicales libres producido durante el periodo de oreo de la carne (DONNELLY y ROBINSON, 1995). Esta abundancia en la formación de radicales libres a partir del sacrificio del animal se explica parcialmente por la incompleta reducción del oxígeno, provocada a su vez por las irregularidades que se producen en el metabolismo redox, una situación que se asemeja a la que se produce en condiciones de isquemia, en la cual, los radicales libres liberados producen efectos devastadores (MOSKOWITZ y KUKIN, 1999).

Después de 12 horas, las actividades tanto de SOD como de CAT disminuyen. Este descenso en la actividad de los dos enzimas puede ser motivado por la caída del pH que produce una progresiva desnaturalización de las proteínas y, por ende, inactivación enzimática. Al mismo tiempo, debe tenerse en cuenta que la máxima actividad de SOD se consigue en un rango de pH entre 6,8 y 7,8. Ya que el pH después de las 12 primeras horas fue siempre inferior a 6,8 ($pH < 5,8 \pm 0,19$), la actividad de SOD en ese periodo debemos suponer que se ha reducido por no ser las condiciones idóneas de actuación del enzima y no debido a un descenso del estrés oxidativo del tejido. Un efecto similar puede ser supuesto para el caso de CAT. En experimentos llevados a cabo a lo largo de periodos de tiempo más largos, incluso tres meses, en los que se estudiaba tejido almacenado en refrigeración y congelación (PRADHAN *et al.*, 2000), se ha comprobado que CAT es capaz de mantener una actividad basal tanto en *Longissimus dorsi* de vacuno como en otros músculos y animales (LEE *et al.*, 1996 y RENERRE *et al.*, 1996), lo cual indica que la caída gradual observada en nuestro estudio para este enzima a partir de las 12 primeras horas no va a dar lugar a una desaparición de la actividad del enzima, sino que éste mantendrá constante su actividad. Esta es la primera vez que se ha observado una variación de la actividad de este enzima antioxidante durante el periodo *post-mortem* antes de alcanzar su estabilidad probablemente debido a que el estudio se ha realizado desde el momento del sacrificio y con intervalos de estudio muy cortos (cada seis horas) que ha permitido la obtención del pico de actividad que de otra forma pasaría desapercibido ya que la actividad a las 0

horas resulta muy similar a la que vuelve a presentar a las 24 horas.

Por su parte, GR mostró sólo una ligera tendencia, no significativa, a aumentar su actividad durante las primeras 6 horas. Después de ese tiempo la actividad se mantuvo constante a lo largo de las siguientes 18 horas que duró el estudio y no se detectó ningún descenso significativo de actividad equiparable al resto de enzimas estudiados. HERNÁNDEZ *et al.* (2002) demostraron que la actividad del enzima glutatión peroxidasa (GSH-Px), el cual actúa en combinación con el enzima GR, decrece en el *Longissimus dorsi* durante los tres primeros días de almacenamiento refrigerado. En la misma línea, LEE *et al.* (1996) han señalado un decrecimiento de la actividad de este enzima en músculo porcino al cabo de 10 semanas de almacenamiento a –15° C. Estos resultados parecen corroborar el mantenimiento de actividad por nosotros observado para GR, ya que el descenso de actividad se produce más tarde en el almacenamiento refrigerado.

Varios datos indirectos corroboran los resultados obtenidos: por un lado, el tándem GSH-Px y GR es responsable de la detoxificación de H_2O_2 a bajas concentraciones, debido a la alta afinidad que GSH-Px presenta por este sustrato (COSTARIDES *et al.*, 1991). GR cataliza la conversión de glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) en presencia de NADPH. El metabolismo anaerobio que se inicia rápidamente después del sacrificio del animal, provoca un incremento en la concentración de NAPDH + H^+ ya que en ausencia de metabolismo aeróbico el NAD^+ no se recicla. Aunque un exceso de NADPH podría empujar la ruta hacia la formación de GSH, este proceso iría progresivamente antagonizado por la caída de pH que favorece al GSSG; el contenido de GSSG intracelular se incrementa en un 37% a pH< 6 (**) en comparación con su contenido a pH 7,4 (IKEBUCHI *et al.*, 1993). Además el H_2O_2 decrece la concentración de GSH tanto por oxidación directa de la molécula como por inactivación irreversible de GSH-Px , ya sea directamente por peróxido de hidrógeno como por radicales hidroxilo derivados de H_2O_2. Todo ello parece apoyar la necesidad del mantenimiento de la actividad de GR observada.

El significado preciso de los cambios observados en la actividad de los enzimas ensayados permanece desconocido pero puede ser explicado si se estudia el daño provocado en las principales biomoléculas por el estrés oxidativo. Debido a ello, en este trabajo se han determinado tanto el daño de proteínas como de lípidos del músculo. El estudio a lo largo del tiempo realizado de estos parámetros mostró claramente que la reducida capacidad de actuación del tejido *post-mortem*, es aún suficiente para que los enzimas actúen a lo largo del periodo de oreo estudiado. Estos datos unidos a nuestros resultados enzimáticos nos permiten concluir que en *Longissimus dorsi* de nuestra raza de estudio el sistema de defensa antioxidante no sólo es capaz de actuar sino incluso de incrementar sus actividades en respuesta al aumento del estrés oxidativo, al menos durante las 12 primeras horas. Por otra parte, RENERRE *et al.* (1996) han mostrado que la actividad de los enzimas antioxidantes en vacuno resulta más alta en músculos más rojos e inestables, como el diafragma, que en estables como el *Longissimus dorsi*. Debido a estos datos, es posible, que bajo nuestras condiciones, otros músculos en el animal mostrasen actividades en sus enzimas antioxidantes incluso más altas que las detectadas por nosotros en *Longissimus dorsi*.

En nuestro estudio, hemos obtenido una estrecha correlación entre las actividades de los enzimas antioxidantes y el daño a biomo-

léculas. La lipoperoxidación mostró un descenso hacia las 12 horas, cuando los antioxidantes mostraron máximos de actividad, mientras que la oxidación de proteínas fue aumentando débilmente durante las seis primeras horas que se mantuvo hasta las 18 horas, para seguir aumentando desde esa hora hasta la finalización del estudio. Este aumento final se corresponde con una caída en la actividad de los enzimas antioxidantes. Esta correlación de datos indudablemente muestra que durante el periodo de oreo el sistema de defensa antioxidante sigue actuando protegiendo a proteínas y lípidos. Resulta indudable que en periodos más avanzados de almacenamiento refrigerado van a producirse los procesos determinantes de desnaturalización de proteínas que van a llevar a la obtención de terneza en la carne y que determinarán una carne de calidad. Sin embargo, la cuestión que permanece sin dilucidar es, cómo pueden afectar estos cambios tempranos a los procesos posteriores y si van a afectar a la obtención de esta calidad deseada. Es un hecho conocido que la modificación oxidativa de proteínas puede influir en su posterior degradación por proteasas, ya que los cambios ocasionados en consecuencia, como es la carbonilación, pueden facilitar la proteolisis. En nuestro estudio, el daño de proteínas muestra un patrón dependiente de la actividad de los enzimas antioxidantes. Resulta esperable que este proceso continúe después del periodo de observación. INSAUSTI *et al.* (2001) han estudiado seis razas españolas de ganado vacuno entre las que se encontraba la raza "Asturiana de los Valles" que ocupa nuestro estudio, observando los procesos oxidativos que tenían lugar en los lípidos después de las primeras 24 horas *post-mortem*. En ese estudio ellos demostraban, mediante evaluación sensorial, la gran variabilidad en cuanto al periodo de tiempo en el que la carne se conserva en buenas condiciones, encontrándose entre los días 5 y 10 en una raza y entre los días 10 y 15 de las demás razas. El daño oxidativo de las biomoléculas puede ser el factor limitante de esta variabilidad observada.

La lipoperoxidación no sigue el mismo desarrollo temporal que la oxidación de proteínas. La lipoperoxidación desciende durante las primeras 18 horas *post-mortem*, pero no vuelve a alcanzar, a lo largo del periodo de estudio, los valores iniciales. Los enzimas antioxidantes pueden ser, como ya se ha discutido, responsables total o parcialmente durante las 18 primeras horas del descenso en la oxidación de proteínas, así como, de su ascenso posterior al descender la actividad de los mismos. Por otro lado, la baja generación de radicales en el tejido, a lo largo de este periodo podría ser la responsable de la ausencia de un incremento en la lipoperoxidación que acompañase a la oxidación de proteínas. Estudios previos han demostrado el efecto que la catalasa juega sobre la modulación de la lipoperoxidación en carne no cocinada (PRADHAN *et al.*, 2000), al observar que la lipoperoxidación que se produce en músculo de vacuno refrigerado aumenta marcadamente cuando se inhibe la catalasa. La oxidación de la oxihemoglobina puede dar lugar a H_2O_2, como también sucede con la metamioglobina (SATOH y SHIKAMA, 1981; XU *et al.*, 1990); ésta una vez calentada parece mantener la capacidad de ser activada por el H_2O_2. El peróxido de hidrógeno en la carne producido, bien a través de la oxidación de la oxomioglobina o a través de otras vías, puede también participar en la reacción de Haber-Weiss donde se producen radicales hidroxilo altamente reactivos por la reacción del H_2O_2 con anión superóxido (JOHNSON *et al.*, 1992). Por todos estos antecedentes parece lógico concluir que todos aquellos factores, agentes y sucesos que pueden influir en los niveles de H_2O_2 afectarán indirectamente también a la

lipoperoxidación que se vaya produciendo en la carne.

Por otro lado, el daño de proteínas fue medido utilizando un método específico para extractos de proteínas de tejidos crudos que permite eliminar los cromóforos (hemoglobina, mioglobina, retinoides...) que se hallan en cantidades significativas en las muestras de carne, por lo que estos factores no han afectado a nuestros resultados de daño de proteínas aunque indudablemente están influyendo en el daño de lípidos observado.

Por último, es conocido que una caída en la defensa antioxidante tiene un efecto negativo en la tenderización *post-mortem*, ya que va a provocar finalmente un descenso en la retención de agua (CHEFTEL y CHEFTEL, 1982), por lo tanto, el conocimiento de sus actividades, como se ha estudiado en este trabajo, debería ser un buen indicador de la terneza final de la carne que llega al consumidor. Al mismo tiempo, nuestros resultados podrían ser utilizados para detectar el tiempo de almacenamiento refrigerado en el que se ha mantenido a la canal.

Conclusiones

Con el presente trabajo, desarrollado en *Longissimus dorsi* de la raza "Asturiana de los Valles", a lo largo de las primeras 24 horas inmediatas al sacrificio, de obligada refrigeración a 4 °C de las canales, hemos podido establecer que todos los enzimas antioxidantes estudiados, SOD, CAT y GR son capaces de aumentar su actividad durante las primeras doce horas *post-mortem* hasta el punto de disminuir el daño oxidativo de lípidos por debajo de los niveles existentes en el momento del sacrificio y mantenerlo sin diferencias significativas en el caso de las proteínas. Las siguientes doce horas de estudio mostraron un descenso de la actividad enzimática que puede ser debido a múltiples factores (descenso de temperatura y de pH por debajo de los niveles idóneos así como disminución de la energía celular) que se manifestó en un aumento del daño de proteínas que, sin embargo, no afectó de forma determinante a los lípidos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado gracias a una financiación procedente del MCYT CAJAL-01-07. La licenciada Cristina Tomás-Zapico debe agradecer a la "Secretaría de Estado de Educación y Universidades" su beca predoctoral FPU. La Dra. Ana Coto-Montes es investigadora contratada del programa "Ramón y Cajal". Debemos agradecer al personal del Matadero de Avilés su ayuda intelectual y técnica, así como a D. Jose Manuel Llana García su asistencia instrumental.

Bibliografía

BRADFORD M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem., 72, 248-254.

CAMPO M.M., 1999. Influencia de la raza sobre la textura y las características sensoriales de la carne bovina a lo largo de la maduración. Tesis Doctoral. Universidad de Zaragoza.

COSTARIDES A.P., RILEY M.V., GREEN K., 1991. Roles of catalase and the glutathione redox cycle in the regulation of anterior-chamber hydrogen peroxide. Ophthalmic Res., 23, 284-294.

CHEFTEL J.C., CHEFTEL, H., 1982. Carne y pescado, pp 65-97. En: Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Vol. 2, Ed. Acribia . Zaragoza.

DONNELLY J.K., ROBINSON, D.S., 1995. Free Radicals in foods. Free Radical Res., 22, 147-176.

FAGAN J.M., SLECZKA B.G., SOHAR I., 1999. Quantitation of oxidative damage to tissue proteins. Int. J. Biochem. Cell Biol., 31, 751-757.

HERNANDEZ P., PARK D., RHEE K.S., 2002. Chloride SALT type/ionic strength, muscle site and refrigeration effects on antioxidant enzymes and lipid oxidation in pork. Meat Sci., 61, 405-410.

IKEBUCHI M., KASHIWAGI A., ASAHINA T., TANAKA Y., TAKAGI Y., NISHIO Y., HIIDAKA H., KIKKAWA R., SHIGETA Y., 1993. Effect of medium pH on glutathione redox cycle in cultured human umbilical vein endothelial cells. Metabolism, 4, 1121-1126.

INSAUSTI K., BERIAIN M.J., PURROY A., ALBERTI P., GORRAIZ C., ALZUETA M.J., 2001. Shelf live of beef from local Spanish cattle breeds stored under modified atmosphere. Meat Sci., 57, 273-281.

JOHNSON M.A., FISCHER J.G., KAYS S.E., 1992. Is copper an antioxidant nutrient? Crit. Rev. Food Sc. Nutr., 32, 1-31.

KAUFFMAN R.G., MARSH B.B., 1987. Quality characteristics of muscle as a food, pp 349-360. En: J.F. PRICE, B.S. SCHEIGERT. (Ed.) Science of meat and meat products. Food and Nutrition Press, Inc., Westport.

KUM-TATT L., TAN I.K., SEET A.M., 1975. A new colorimetric method for the determination of NADH/NADPH dependent glutathione reductase in erythrocytes and in plasma. Clin. Chem. Acta, 58, 101-108.

LEE S.K., MEI L., DECKER E.A., 1996. Lipid oxidation in cooked turkey as affected by added antioxidant enzymes. J. Food Sci., 61, 726-728.

LENZ A.G., COSTABEL U., SHALTIER S., LEVINE R.L., 1989. Determination of carbonyl groups in oxidately modified proteins by reduction with tritiated sodium borohydride. Anal. Biochem., 177, 419-425.

LUBINSKY S., BEWLEY G.C., 1979. Genetics of catalase in *Drosophila melanogaster*: Rates of synthesis and degradation of the enzyme in flies aneuploid and euploid for the structural gene. Genetics, 9, 723-742.

MARSH B.B., 1993. ICOMST, Calgary, Canada. Review paper, Session 3.

MARTIN J.P. JR., DAILY M., SUGARMAN E., 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. Arch of Biochem. Biophys., 255, 329-336.

MOSKOWITZ R., KUKIN M., 1999. Oxidative stress and congestive heart failure. Congest Heart Fail., 5, 153-163.

O'HALLORAN G.R., TROY D.J., BUCKLEY D.J., 1997. The relationship between early post-mortem pH and the tenderisation of beef muscles. Meat Sci., 45, 239-251.

POTTHAST K., HAMM R., ACKER L., 1977. Influence of water activity on the enzymatic changes in freeze-dehydrated muscle. IV. Change in the activity of glycolytic enzymes during storage (author's transl). Z Lebensm Unters F A, 165, 18-20.

PRADHAN A.A., RHEE K.S., HERNANDEZ P., 2000. Stability of catalase and its potencial role in lipid oxidation in meat. Meat Sci., 54, 385-390.

RENERRE M., FRANCOISE D., GATELLIER P., 1996. Antioxidant enzyme activity in beef in relation to oxidation of lipid and myoglobin. Meat Sci. 43, 111-121.

RONCALES P., GEESINK G.H.,VAN LAACK R.L.J.M., JAIME I., BELTRAN J.A., BARNIER V.H.M., SMULDERS F.J.M., 1995. Meat tenderisation: enzymatic mechanisms, pp. 311-332. En: A. OUALI, D. DEMEYER, F. SMULDERS (Ed.) Expression of Tissue Proteinases and Regulation of protein degradation as related to meat quality. ECCEAMST.

SATOH Y., SHIKAMA K., 1981. Autoxidation of oxymyoglobin: a nucleophilic displacement mechanims. J. Biol. Chem. 256, 10272-10275.

UYTTERHAEGEN L., CLAEYS E., DEMEYER D., 1994. Effects of exogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility. J. Anim. Sci., 72, 1209-1223.

WHEELER T.L., KOOHMARAIE M., 1994. Prerigor and postrigor changes in tenderness of ovine longissimus muscle. J. Anim. Sci., 72, 1232-1238.

XU Y., ASGHAR A., GRAY J.I., PEARSON A.M., HAUNG A., GRULKE E.A., 1990. ESR spin-trapping studies of free radicals generated by hydrogen peroxide activation of metmyoglobin. J. Agr. Food Chem., 38, 1494-1497.

(Aceptado para publicación el 26 de enero de 2004).

PREMIOS DE PRENSA AGRARIA 2003 DE LA ASOCIACIÓN INTERPROFESIONAL PARA EL DESARROLLO AGRARIO

La Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario (AIDA) acordó en Asamblea General celebrada en mayo de 1983, instaurar un premio anual de Prensa Agraria, con el objetivo de hacer destacar aquel artículo de los publicados en ITEA que reúna las mejores características técnicas, científicas y de valor divulgativo, y que refleje a juicio del jurado, el espíritu fundacional de AIDA de hacer de transmisor de conocimientos hacia el profesional, técnico o empresario agrario.

El día 9 de abril de 1987, la Junta Directiva de AIDA aceptando la propuesta del Jurado del Premio ITEA 1986 instituyó dos premios; uno para los artículos publicados en la sección de Producción Animal y otro para aquellos que aparezcan en la sección de Producción Vegetal.

Los premios se regirán de acuerdo a las siguientes

BASES

1. Podran concursar todos los artículos que versen sobre cualquier tema técnico-económico-agrario.
2. Los artículos que podrán acceder a los premios serán todos aquellos que se publiquen en ITEA en el año 2003. Consecuentemente, los originales deberán ser enviados de acuerdo con las normas de ITEA y aprobados por su Comité de Redacción.
3. El jurado estará constituido por las siguientes personas:
   a) Presidente de AIDA, que presidirá el jurado.
   b) Director de la revista ITEA, que actuará de Secretario.
   c) Jefe del Servicio de Investigación Agroalimentaria de Zaragoza (Diputación General de Aragón).
   d) Director del Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza.
   e) Director de la Estación Experimental de Aula Dei.
4. Los premios serán anuales y con una dotación de 300 € cada uno.
5. Las deliberaciones del jurado serán secretas, y su fallo inapelable.
6. El fallo del jurado se dará a conocer en la revista ITEA, y la entrega del premio se realizará con motivo de la celebración de las Jornadas de Estudio de AIDA.

CENTRO INTERNACIONAL DE ALTOS ESTUDIOS AGRONÓMICOS MEDITERRÁNEOS
INSTITUTO AGRONÓMICO MEDITERRÁNEO DE ZARAGOZA

CIHEAM/IAMZ - Cursos 2003-04-05

CIHEAM

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
PRODUCCIÓN VEGETAL	PRODUCCIÓN INTEGRADA DE FRUTAS DE HUESO Y PEPITA EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	15-26 Sep. 03	Zaragoza	IAMZ/AECI
	*OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA	26 Sep. 03/ 25 Mayo 04	Córdoba	UCO/CAP-JA/ CSIC/COI/IAMZ
	NUEVAS OPCIONES PARA UNA AGRICULTURA SOSTENIBLE EN LOS SECANOS DEL ÁREA MEDITERRÁNEA	14-24 Oct. 03	Córdoba	IAMZ/IAS/AECI
	HERRAMIENTAS GENÓMICAS PARA EL ANÁLISIS Y LA MEJORA DE CARACTERES COMPLEJOS EN CULTIVOS AGRÍCOLAS	26-30 Ene. 04	Zaragoza	IAMZ
	MÉTODOS ESTADÍSTICOS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS GENÓMICOS DE PLANTAS	2-6 Feb. 04	Zaragoza	IAMZ
	TECNOLOGÍAS POSTCOSECHA DE PRODUCTOS HORTÍCOLAS MEDITERRÁNEOS: CALIDAD Y SEGURIDAD	8-13 Mar. 04	Zaragoza	IAMZ
	*MEJORA GENÉTICA VEGETAL	4 Oct. 04/ 10 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ
	GESTIÓN DE RIESGOS EN LA AGRICULTURA MEDITERRÁNEA: SEGUROS AGRARIOS	22-26 Nov. 04	Zaragoza	IAMZ/MAPA-ENESA/ OCDE/AECI
	USO DE LOS MARCADORES MOLECULARES EN MEJORA VEGETAL	17-28 Ene. 05	Cabrils	IAMZ/IRTA
PRODUCCIÓN ANIMAL	*PRODUCCIÓN ANIMAL	29 Sep. 03/4 Jun. 04	Zaragoza	IAMZ
	CONSERVACIÓN Y GESTIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS ANIMALES	20-24 Oct. 03	Zaragoza	IAMZ/FAO
	PRODUCCIÓN CAPRINA	3-14 Nov. 03	Lorca-Murcia	IAMZ/CAAMA-RM
	PLANIFICACIÓN Y DESARROLLO DE CAMPAÑAS DE SANEAMIENTO GANADERO	13-17 Sep. 04	Zaragoza	IAMZ/FAO/OIE
	TRAZABILIDAD DE PRODUCTOS CÁRNICOS: SISTEMAS Y TÉCNICAS	13-17 Dic. 04	Zaragoza	IAMZ
	VALORIZACIÓN DE PRODUCTOS LÁCTEOS DE OVINOS Y CAPRINOS EN EL ÁREA MEDITERRÁNEA. TECNOLOGÍAS ACTUALES Y PERSPECTIVAS DE MERCADO	7-18 Feb. 05	Pamplona	IAMZ/ Univ. Pública de Navarra
	TÉCNICAS MOLECULARES EN MEJORA GENÉTICA ANIMAL	4-8 Abr. 05	León	IAMZ/Univ. León
	PRODUCCIÓN ANIMAL Y GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	2-6 Mayo 05	Fonte Boa	IAMZ/EZN

(*) **Cursos de Especialización Postuniversitaria** del correspondiente Programa Master of Science (*marcados con asterisco en el listado). Se desarrollan cada dos años:

- MEJORA GENÉTICA VEGETAL: 04-05; 06-07; 08-09
- OLIVICULTURA Y ELAIOTECNIA: 03-04; 05-06; 07-08
- PRODUCCIÓN ANIMAL: 03-04; 05-06; 07-08
- PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE: 04-05; 06-07; 08-09
- MARKETING AGROALIMENTARIO: 03-04; 05-06; 07-08
- ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA: 04-05; 06-07; 08-09
- ACUICULTURA: 04-05; 06-07; 08-09

Se destinan primordialmente a titulados superiores en vías de especialización postuniversitaria. No obstante se estructuran en ciclos 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 los cursos de Mejora Genética Vegetal, Ordenación Rural en Función del Medio Ambiente y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2002. El plazo de inscripción para los cursos de Mejora genética vegetal, Planificación integrada para el desarrollo rural y la gestión del medio ambiente, Economía y gestión de la actividad pesquera y Acuicultura finaliza el 15 de Mayo 2004. El plazo de inscripción para el curso de Olivicultura y elaiotecnia finaliza el 15 de Abril 2005. El plazo de inscripción para los cursos de Producción animal y Marketing agroalimentario finaliza el 15 de Mayo 2005.

	CURSOS	FECHAS	LUGAR	ORGANIZACIÓN
MEDIO AMBIENTE	GESTIÓN DE EMBALSES: INTEGRACIÓN DE CRITERIOS AMBIENTALES Y DE USO	22-27 Sep. 03	Zaragoza	IAMZ
	TURISMO EN ÁREAS RURALES: ESTRATEGIAS Y PROMOCIÓN	15-20 Dic. 03	Zaragoza	IAMZ
	CRITERIOS PARA LA GESTIÓN MULTIFUNCIONAL DEL BOSQUE MEDITERRÁNEO	29 Mar./2 Abr. 04	Solsona	IAMZ/CTFC
	ESTRATEGIAS PARA PREVENIR Y MITIGAR LOS EFECTOS DE LA SEQUÍA EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	26-30 Abr. 04	Zaragoza	IAMZ/ICARDA
	INGENIERÍA ECOLÓGICA APLICADA A LA RESTAURACIÓN AMBIENTAL EN ZONAS MEDITERRÁNEAS	7-18 Jun. 04	Zaragoza	IAMZ
	PROGRAMAS DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL PARA EL CONTROL DE INCENDIOS FORESTALES EN LA REGIÓN MEDITERRÁNEA	27 Sep./1 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/MMA-DGCN/ FAO/AECI
	*PLANIFICACIÓN INTEGRADA PARA EL DESARROLLO RURAL Y LA GESTIÓN DEL MEDIO AMBIENTE	4 Oct. 04/10 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ
	ECONOMÍA AMBIENTAL Y DE LOS RECURSOS NATURALES	24 Ene./4 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ
COMERCIALIZACIÓN	*MARKETING AGROALIMENTARIO	29 Sep. 03/4 Jun. 04	Zaragoza	IAMZ
	LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL COMERCIO Y SU IMPACTO EN EL COMERCIO INTERNACIONAL AGROALIMENTARIO	18-22 Oct. 04	Zaragoza	IAMZ/OMC
	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN EL MARKETING AGROALIMENTARIO: NORMATIVAS, SISTEMAS Y REPERCUSIONES EMPRESARIALES	7-11 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	TRAZABILIDAD Y ETIQUETADO DE LOS ALIMENTOS: RESPUESTA A LOS REQUERIMIENTOS DE SEGURIDAD Y DE MERCADO	14-18 Mar. 05	Zaragoza	IAMZ
	MARKETING DE FRUTAS Y HORTALIZAS EN FRESCO	11-22 Abr. 05	Zaragoza	IAMZ
	ESTRATEGIAS DE MARKETING EN EL MERCADO INTERNACIONAL DEL VINO	16-20 Mayo 05	Zaragoza	IAMZ
PESCA Y AGRICULTURA	SISTEMAS DE RECIRCULACIÓN Y SU APLICACIÓN EN ACUICULTURA	12-16 Ene. 04	Sète	IAMZ/FAO/IFREMER
	COMERCIALIZACIÓN DE PRODUCTOS DEL MAR: TENDENCIAS Y RETOS	16-20 Feb. 04	Zaragoza	IAMZ/FAO
	ACUICULTURA EN MAR ABIERTO	17-22 Mayo 04	Zaragoza	IAMZ/AECI
	*ECONOMÍA Y GESTIÓN DE LA ACTIVIDAD PESQUERA	27 Sep. 04/18 Mar. 05	Barcelona	Univ. Barcelona/SGPM-MAPA/ FAO-COPEMED/IAMZ
	*ACUICULTURA	Oct. 04/Abr. 05	Las Palmas de Gran Canaria	ULPGC/ICCM/IAMZ
	DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE ENFERMEDADES DE PECES EN ACUICULTURA MARINA MEDITERRÁNEA	13-24 Sep. 04	Santiago de Compostela	IAMZ/Univ. Santiago de Compostela
	DISEÑO Y GESTIÓN DE CRIADEROS DE MOLUSCOS	14-18 Feb. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO
	ESTABLECIMIENTO Y GESTIÓN DE RESERVAS MARINAS DE INTERÉS PESQUERO	7-11 Mar. 05	Palma de Mallorca	IAMZ/IEO
	USO DE LOS SISTEMAS DE INFORMACIÓN GEOGRÁFICA EN PESCA Y ACUICULTURA	13-24 Jun. 05	Zaragoza	IAMZ/FAO

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, Líbano, 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.

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 inscripción pueden solicitarse a la dirección del IAMZ u obtenerse directamente de la página web:

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza

Apartado 202 - 50080 ZARAGOZA (ESPAÑA)
Teléfono +34 976 716000 - Fax +34 976 716001 - e-mail iamz@iamz.ciheam.org
www.iamz.ciheam.org

INSCRIPCIÓN EN AIDA

* Si desea Ud. pertenecer a la Asociación, rellene la ficha de inscripción así como la carta para la domiciliación del pago de la cuota de asociado y envíelas a AIDA. Aptdo. 727. 50080 Zaragoza.

El abajo firmante solicita su inscripción como miembro de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario.

Apellidos ..... Nombre .....

Dirección postal .....

Teléfono .....

Profesión..... Empresa de trabajo .....

Área en que desarrolla su actividad profesional .....

CUOTA ANUAL: Firma.

❑ Sólo una Serie de ITEA { ❑ P. Animal / ❑ P. Vegetal } 27 €

❑ Ambas Series 36 €

FORMA DE PAGO:

❑ Cargo a cuenta corriente o libreta
❑ Cheque bancario
❑ Cargo a tarjeta
❑ VISA
❑ MASTERCARD

Tarjeta número:
□□ □□□□□□□□□□□□□□□□ Fecha de caducidad: /

SR. DIRECTOR DE .....

Muy Sr. mío:

Ruego a Vd. se sirva adeudar en la cuenta cte./libreta n.º ..... que matengo en esa oficina, el recibo anual que será presentado por la "Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario".

Atentamente,

Firmado:

BANCO O CAJA DE AHORROS: .....

SUCURSAL: .....

DIRECCIÓN CALLE/PLAZA: ..... N.º .....

CÓDIGO POSTAL: .....

POBLACIÓN: .....

INFORMACIÓN PARA AUTORES

Esta información puede encontrarse también en www.aida-itea.org

Tipo de artículos que pueden ser enviados para su consideración al Comité de Redacción: se admite todo aquel que contribuya al intercambio de información profesional y trate de los más recientes avances que existan en las distintas actividades agrarias.

Una *información para autores* más detallada puede ser solicitada al Comité de Redacción. Rogamos sea leída detenidamente, prestando atención especial a los siguientes puntos:

CONDICIONES GENERALES

Los artículos, en castellano, serán enviados por triplicado a:
Sr. Director de la Revista ITEA - Apartado 727 - 50080 ZARAGOZA

RECOMENDACIONES EN LA PREPARACIÓN DE LOS ORIGINALES

La extensión máxima será de 25 folios de texto mecanografiado a doble espacio, cuadros y figuras incluidos. Los artículos que superen dicha extensión serán considerados sólo excepcionalmente.

Los artículos se remitirán a dos evaluadores anónimos expertos en el tema y el autor recibirá un informe del Comité de Redacción con las correcciones de dichos evaluadores. Una vez realizadas las correcciones, el autor enviará un sólo ejemplar mecanografiado y una copia en disquete, para agilizar el trabajo en imprenta. Si el Comité de Redacción considera que se han atendido las consideraciones del informe, enviará una carta de aceptación al remitente, y el artículo pasará de inmediato a imprenta.

Los autores recibirán un juego de las primeras pruebas de impresión que deberán ser revisadas y devueltas rápidamente a la Redacción. El retraso en el retorno de las pruebas determinará que el artículo sea publicado con las correcciones del Comité de Redacción.

El título no incluirá abreviaturas y será corto y preciso. En la misma página se incluirán los nombres completos de los autores, así como la dirección postal y nombre de la Entidad en donde se haya realizado el trabajo.

Se incluirá en primer lugar un resumen corto de 200-250 palabras y hasta seis palabras clave. Además, se añadirá un resumen en *inglés* de la misma extensión, sin olvidar el *título* traducido y las palabras clave (Keywords).

A continuación del resumen vendrá el artículo completo, procurando mantener una disposición lógica, considerando cuidadosamente la jerarquía de títulos, subtítulos y apartados.

Los dibujos, gráficos, mapas y fotografías deben titularse todos *figuras*. Los *cuadros* y *figuras* deben llevar numeración diferente, pero ambos en cifras árabes.

Los pies o títulos de cuadros y figuras deben redactarse de modo que el sentido de éstos pueda comprenderse sin necesidad de acudir al texto. Los títulos, pies y leyendas de los cuadros y figuras se traducirán al inglés y se incluirán en letra cursiva, bajo el correspondiente en español.

Los dibujos, gráficos, mapas, fotografías y diapositivas serán presentados en la mejor calidad posible.

En general se evitará el uso de abreviaturas poco conocidas, que en todo caso serán debidamente explicadas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

En el *texto* las referencias deben hacerse mediante el apellido de los autores en mayúsculas seguido del año de publicación, todo entre paréntesis.

Al final del trabajo, y precedida de la mención *Referencias Bibliográficas,* se hará constar una lista alfabética de todas (y únicamente) las referencias utilizadas en el texto. En el caso de incluir varios trabajos del mismo autor se ordenarán cronológicamente.

Cuando se citen revistas[1], libros[2], capítulos de libro[3] y comunicaciones a congresos[4] se hará según los siguientes ejemplos:

(1) HERRERO J., TABUENCA, M.C., 1966. Épocas de floración de variedades de hueso y pepita. An. Aula Dei, 8 (1), 154-167.

(2) STELL, R.G.D., Y TORRIE, J.H. 1986. Bioestadística: principios y procedimientos (segunda edición) 622 pp. Ed. McGraw-Hill. México.

(3) GAMBORG O.L., 1984. Plant cell cultures: nutrition and media, pp. 18-26. En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Vol. 1, I.K. Vasil (Ed.), 825 pp. Ed. Academic Press, Orlando (EEUU).

(4) ANGEL I., 1972. The use of fasciculate form (determinate habit) in the breeding of new Hungarian pepper varieties. Third Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum, 17-24, Universidad de Turín (Italia).

ITEA

Información Técnica Económica Agraria
Revista de la Asociación Interprofesional para el Desarrollo Agrario
www.aida-itea.org

AÑO XXXV (2004), Vol. 100A N.° 1

ÍNDICE

Página

J. Díez, J.J. del Coz, O. Luaces, F. Goyache, J. Alonso, A.M.ª Peña, A. Bahamonde.- Un algoritmo de aprendizaje automático para evaluación de la calidad a partir de calificaciones subjetivas 5

L.J. Royo, I. Fernández, I. Álvarez, A. Rodríguez, F. Goyache.- Revisión sobre la herencia del color de la capa en ganado bovino..... 17

F. Monsón, G. Bianchi, C. Sañudo, J.L. Olleta, B. Panea, P. Albertí, A. Ariño.- Efecto del uso de promotores del crecimiento (hormonas + dexametasona y clenbuterol + dexametasona) sobre la calidad de la canal en añojos pesados... 30

A. Coto-Montes, B. Caballero, V. Sierra, I. Vega-Naredo, C. Tomás-Zapico, R. Hardeland, D. Tolivia, F. Ureña, M.J. Rodríguez-Colunga. Royo, I. Fernández, I. Álvarez, A. Rodríguez, F. Goyache.- Actividad de los principales enzimas antioxidantes durante el periodo de Oreo de culones de la raza Asturiana de los Valles..... 43