



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Efecto de la selección por grasa intramuscular en la cantidad de grasa y perfil de ácidos grasos del hígado en conejo.

Trabajo Fin De Máster

Valencia, Julio 2019

Ruth Ccalta Hanco

Directoras

Pilar Hernández Pérez

Marina Martínez Álvaro

RESUMEN

El presente trabajo se enmarca dentro de un experimento de selección divergente por grasa intramuscular (GIM) en el músculo *Longissimus* en conejos durante 10 generaciones, realizado en la Universitat Politècnica de València.

El objetivo del trabajo fue estudiar la respuesta a la selección divergente por grasa intramuscular (GIM) en conejo tras 10 generaciones, y las respuestas correlacionadas en el porcentaje de grasa y el perfil de ácidos grasos del hígado, así como en metabolitos del plasma relacionados con el metabolismo del hígado.

Se usaron 54 conejos de la décima generación, 27 de la línea de alta GIM (GA) y 27 de la línea de baja GIM (GB). Se midieron diversos caracteres de la canal: peso vivo, peso de la canal comercial y de referencia, peso de la grasa perirrenal y escapular, porcentaje de grasa de la canal y peso y porcentaje del hígado. Se midió el porcentaje de GIM del músculo *Longissimus* (mediante NIRS) y del hígado (químicamente) y el perfil de ácidos grasos del hígado (por cromatografía de gases). También se midió la concentración de diversos metabolitos del plasma relacionados con la función hepática: ácidos biliares, albúmina, bilirrubina, colesterol, triglicéridos, glucosa y alanina transaminasa.

Los datos se analizaron utilizando estadística bayesiana. El modelo empleado incluyó los efectos fijos de: línea (GA y GB), sexo (macho y hembra) y orden de parto (con dos niveles) y el efecto aleatorio de camada.

La respuesta directa para GIM en la décima generación fue de 0.52g/100 g, que representa un 48% de la media. La selección por GIM no afectó al peso vivo, peso de la canal comercial ni al peso de la canal de referencia. El peso de la grasa perirrenal y porcentaje de grasa disecable de la canal fueron superiores en la línea GA que en la GB. La diferencia entre líneas para la grasa perirrenal fue de 3.87 g, y para el porcentaje de grasa de la canal fue 0.59. No hubo respuesta correlacionada a la selección por GIM en el peso de la grasa escapular.

La selección por GIM tuvo una respuesta correlacionada positiva en el porcentaje de hígado de la canal ($P_0=0.97$), y en el peso del hígado ($P_0=0.86$), siendo mayor en la línea GA que en la GB. No observamos diferencias entre líneas en la cantidad de grasa del hígado, pero sí hubo diferencias en el perfil de ácidos grasos. La línea GA mostró mayor porcentaje del total de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) ($D=2.1$; $P_0=0.99$) y mayores porcentajes de los AGM individuales (C16:1, C17:1, C18:1n9c y C18:1n-7). El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados fue mayor en la línea GB ($D=-2.5$; $P_0=0.99$). Se observaron mayores porcentajes de C18:2n6, C18:3n3, C20:2 y C20:5n3 en la línea GB. No se encontraron diferencias entre las líneas en el total de ácidos saturados (AGS).

Respecto a los metabolitos plasmáticos relacionados con el metabolismo hepático, la línea GB mostró mayor concentración de triglicéridos y menor alanintransaminasa (ALT) que la línea GA. No hubo diferencias en el resto de metabolitos medidos.

Estos resultados ponen de manifiesto el importante papel del hígado en la deposición de las líneas seleccionadas divergentemente por GIM.

SUMMARY

The present work is part of an experiment of divergent selection by intramuscular fat (IMF) in the Longissimus muscle in rabbits during 10 generations carried out at the Universitat Politècnica de València.

The aim of the study was to study the response to divergent selection by IMF in rabbits after 10 generations of selection, and the correlated responses in the fat content and fatty acid profile of the liver, as well as in plasma metabolites related to the liver metabolism.

We used 54 rabbits from the tenth generation, 27 from the high IMF line (GA) and 27 from the low IMF line (GB). Different carcass traits were measured: live weight, commercial and reference carcass weight, perirenal and scapular fat weight, carcass fat percentage, and liver weight and percentage. It was measured the IMF of the Longissimus muscle (by NIRS), the liver fat content (chemically) and the fatty acid profile of the liver (by gas chromatography). The concentration of various plasma metabolites related to liver metabolism were also measured: bile acids, albumin, bilirubin, cholesterol, triglycerides, glucose and alanine transaminase.

The data were analysed using Bayesian statistics. The model used included as fixed effects: line (GA and GB), sex (male and female) and parity order (two levels) and the random effect of litter.

The direct response for IMF was 0.52g / 100 g, which represents 48% of the average. The selection by IMF did not affect the live weight and the commercial and reference carcass weights. Perirenal fat and carcass fat percentage were higher in the GA line than in the GB. The difference between lines for perirenal fat was 3.87 g, and for the carcass fat percentage was 0.59. There was no correlated response in the scapular fat weight.

The selection for IMF had a positive correlated response in the liver percentage ($P_0 = 0.97$), and in the liver weight ($P_0 = 0.86$), being higher in the GA line than in the GB. We did not observe differences between lines in the liver fat content, but there were differences in the fatty acid profile. The GA line showed a higher percentage of the total monounsaturated fatty acids (AGM) ($D = 2.1$, $P_0 = 0.99$) and higher percentages of the individual AGM (C16: 1, C17: 1, C18: 1n9c and C18: 1n-7). The percentage of polyunsaturated fatty acids was higher in the GB line ($D = -2.5$, $P_0 = 0.99$). Higher percentages of C18:2n6, C18:3n3, C20:2 and C20:5n3 in line GB were found. No differences were found between lines in the total saturated acids (SFA).

Regarding plasma metabolites related to hepatic metabolism, the GB line showed higher triglycerides concentration and lower alanine transaminase (ALT) than the GA line. There were no differences in the rest of metabolites measured.

These results highlight the important role of the liver in the deposition of the lines selected divergently by IMF.

RESUM

El present treball s'emmarca dins d'un experiment de selecció divergent per greix intramuscular (GIM) en el múscul *Longissimus* en conills durant 10 generacions, realitzat a la Universitat Politècnica de València.

L'objectiu del treball va ser estudiar la resposta a la selecció divergent per greix intramuscular (GIM) en conill després de 10 generacions, i les respostes correlacionades en el percentatge de greix i el perfil d'àcids grassos del fetge, així com en metabòlits del plasma relacionats amb el metabolisme del fetge.

Es van usar 54 conills, 27 de la línia d'alta GIM (GA) i 27 de la línia de baixa GIM (GB). Es van mesurar diversos caràcters de la canal: pes viu, pes de la canal comercial i de referència, pes del greix perirrenal i escapular, percentatge de greix de la canal, i pes i percentatge del fetge. Es va mesurar el percentatge de GIM del múscul *Longissimus* (mitjançant NIRS) i del fetge (químicament) i el perfil d'àcids grassos del fetge (per cromatografia de gasos). També es va mesurar la concentració de diversos metabòlits del plasma relacionats amb la funció hepàtica: àcids biliars, albúmina, bilirubina, colesterol, triglicèrids, glucosa i alanina transaminasa.

Les dades es van analitzar utilitzant estadística bayesiana. El model emprat incloc els efectes fixos de: línia (GA i GB), sexe (mascle i femella) i ordre de part (amb dos nivells) i l'efecte aleatori de camada.

La resposta directa per GIM en la desena generació va ser de 0.52g / 100 g, que representa un 48% de la mitjana. La selecció per GIM no va afectar al pes viu, pes de la canal comercial ni al pes de la canal de referència. El pes del greix perirrenal i percentatge de greix de la canal van ser superiors en la línia GA que a la GB. La diferència entre línies per al greix perirenal va ser de 3.87 g, i per al percentatge de greix va ser 0.59. No hi va haver resposta correlacionada a la selecció per GIM en el pes del greix escapular.

La selecció per GIM va tenir una resposta correlacionada positiva en el percentatge de fetge de la canal ($P_0 = 0.97$), i en el pes del fetge ($P_0 = 0.86$), sent major en la línia GA que a la GB. No observem diferències entre línies en la quantitat de greix del fetge, però si hi va haver diferències el perfil d'àcids grassos. La línia GA va mostrar major percentatge del total d'àcids grassos monoinsaturats (AGM) ($D = 2.1$; $P_0 = 0.99$) i majors percentatges dels AGM individuals (C16: 1, C17: 1, C18: 1n9c i C18: 1n7) . El percentatge d'àcids grassos poliinsaturats va ser major en la línia GB ($D = -2.5$; $P_0 = 0.99$). Es van observar majors percentatges de C18:2n6, C18: 3n3, C20: 2 i C20: 5n3 en la línia GB. No es van trobar diferències entre les línies en el total d'àcids saturats (AGS).

Pel que fa als metabòlits plasmàtics relacionats amb el metabolisme hepàtic, la línia GB va mostrar més concentració de triglicèrids i menor alanintransaminasa (ALT) que la línia GA. No hi va haver diferències en la resta de metabòlits mesurats.

Aquests resultats posen de manifest l'important paper del fetge en la deposició de les línies seleccionades divergentment per GIM.

1. INTRODUCCIÓN

La grasa intramuscular es uno de los principales parámetros que afectan a la calidad de la carne, afecta tanto a las propiedades sensoriales como tecnológicas (Wood et al., 2008). La carne de conejo es una carne magra, rica en proteína de alto valor biológico con alto contenido de grasas insaturadas y bajo contenido de colesterol (Hernández y Gondret, 2006).

La selección genética permite incrementar el contenido de GIM en la carne, aprovechando la alta hereadabilidad (revisado por Ciobanu et al., 2011 en cerdo) y variabilidad que presenta este carácter. Hay pocos experimentos de selección por GIM (Sapp et al., 2002 en vacuno; Zhao et al., 2007 en pollos y Schwab et al., 2009 en cerdos). En la Universitat Politècnica de València se ha realizado un experimento de selección divergente por grasa intramuscular (GIM) en el músculo *Longissimus* en conejo durante 10 generaciones. El conejo es un excelente modelo animal para experimentos genéticos en otras especies ganaderas debido a su corto intervalo generacional (6 a 8 meses) y al bajo coste de su canal.

Hasta el momento se han realizado diversos estudios a lo largo de las diferentes generaciones de selección. En la séptima generación de selección, la diferencia fenotípica entre las líneas seleccionadas por alto y bajo contenido en GIM fue de 0.39 g de GIM/100g de carne, lo que supone 2.6 desviaciones típicas o un 35% de la media del carácter (Martínez-Álvaro et al., 2016). También se han realizado estudios sobre el metabolismo lipídico centrados fundamentalmente en la actividad de los enzimas lipogénicos en el músculo, tejido adiposo e hígado (Martínez-Álvaro et al., 2017). El hígado es el tejido con mayor actividad lipogénica en conejos en crecimiento (Gondret et al., 1997). En la octava generación de selección se observó una mayor actividad lipogénica en el hígado de los conejos de alta GIM (Martínez-Álvaro et al., 2017) pero no se estudió la respuesta correlacionada en la cantidad de grasa del hígado ni en su perfil de ácidos grasos.

El objetivo del trabajo fue estudiar la respuesta a la selección divergente por grasa intramuscular (GIM) en conejo tras 10 generaciones, y las respuestas correlacionadas en el porcentaje de grasa y el perfil de ácidos grasos del hígado, así como en metabolitos del plasma relacionados con el metabolismo del hígado.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Animales

Se usaron 54 conejos de la décima generación de un experimento de selección divergente por grasa intramuscular GIM, 27 de la línea de alta GIM (GA) y 27 de la línea de baja GIM (GB). El criterio de selección fue el valor fenotípico de la GIM medido en 2 hermanos completos del candidato (un macho y una hembra) a las 9 semanas de edad, tal como se describe en (Martínez-Álvaro et al., 2016). El contenido de GIM se midió en el músculo *Longissimus* usando Espectroscopía de Reflectancia del Infrarrojo Cercano (NIRS). La población base estaba formada por 13 machos y 83 hembras procedentes de una línea sintética seleccionada por tasa de ovulación durante 10 generaciones (Laborda et al., 2011). Las líneas GA y GB tuvieron aproximadamente 40 hembras y 8 machos por generación. En ambas líneas la presión de selección en las hembras fue del 20% por generación, mientras que los machos se seleccionaron dentro de familias de padres para evitar problemas de consanguinidad.

Las líneas GA y GB se criaron de manera contemporánea en la granja experimental de la Universitat Politècnica de València. Se hicieron adopciones al nacimiento para obtener camadas homogéneas de 9 gazapos. Los gazapos fueron alimentados ad libitum con una dieta comercial con 16.5% de proteína cruda, 15.0% de fibra cruda y 3.1% de grasa, la composición de ácidos grasos en la dieta fue 0.49% de C14:0, 19.4% de C16:0, 0.68% de C16:1, 2.77% de C18:0, 20.5% de C18:1n-9, 48.1% de C18:2n-6, 6.80% de C18:3n-3 y a 1.26 % de C>20.

Los conejos ayunaron durante 4 horas antes del sacrificio a las 9 semanas de edad. El sacrificio se realizó por desangrado con previo aturdimiento eléctrico. Durante el desangrado, se recogieron muestras de sangre de la vena yugular en tubos de 1 ml con heparina de litio como anticoagulante. Las muestras se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos para obtener el plasma, que se almacenó a -80 °C hasta su análisis. Inmediatamente tras el sacrificio. Tras el sacrificio, las canales se refrigeraron a 4 °C durante 24 horas.

Todos los procedimientos que involucraron el manejo de animales fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Politécnica de Valencia, de acuerdo a las directivas 98/58/EC y 2010/63/EU.

2.2. Características de canal

Se anotó el peso vivo de los animales a las 9 semanas de edad antes del ayuno. Se obtuvo el peso de la canal comercial y el peso de la canal de referencia (sin cabeza, hígado, pulmones, timo, esófago, corazón y riñones) de acuerdo a las normas de la World Rabbit Science Association (Blasco y Ouhayoun, 1996). El depósito de grasa perirrenal se diseccionó y se pesó. El hígado se pesó y se envasó a vacío y se congeló a -20°C hasta su utilización en posteriores análisis.

Los músculos *Longissimus* se separaron de la canal, se picaron, se liofilizaron y fueron analizados con un equipo NIRS (modelo 5000, FOSS NIRSystems INC., Hilleroed, Denmark) para determinar el contenido de GIM, aplicando las ecuaciones de calibración obtenidas por Zomeño et al. (2012). El contenido de GIM se expresó en g/100 g de carne fresca.

2.3. Grasa del hígado

Para la extracción de la grasa del hígado se pesó 1.5 g de muestra. El contenido de grasa se obtuvo mediante extracción con éter diethyl (Soxtex 2055, Tecator, Hoganas, Swenden) con una hidrólisis ácida previa (Soxcap 2022,) por triplicado. El contenido de grasa se expresó como gramos por 100 gramos de tejido fresco.

2.4. Análisis de ácidos grasos del hígado

Para la extracción de los ácidos grasos se pesó 0.6 g de muestra de hígado en tubo pírax de 15 ml. Los ésteres metílicos de los ácidos grasos se prepararon siguiendo el procedimiento de O'Fallon et al., (2007). Luego fueron analizados por cromatografía de gases mediante un cromatógrafo FOCUS (Thermo, Milan, Italy) con un inyector Split/splitless y un detector de ionización de llama. La separación de los ésteres metílicos se realizó en una columna capilar de sílica SPTM 2560 (Supelco, PA, USA) (100m x 0.25mm x 0.2 µm espesor de film). El gas portador fue helio con una velocidad lineal de 20 cm/seg. Las muestras fueron inyectadas con un Split ratio de 1/100. La temperatura inicial se fijó en 140°C por 5 min e incrementado a 240°C a 4°C /min y finalmente se mantuvo a esa temperatura durante 30 minutos. Ambas temperaturas de inyector y detector fueron de 260°C. Los ácidos grasos se identificaron individualmente, comparando sus tiempos de retención con los estándares de los FAME suministrados por supelco (PA, USA). La cuantificación de los ácidos grasos se llevó a cabo utilizando como estándar interno el C13:0. Los distintos ácidos grasos se expresaron como porcentaje del total de ácidos grasos. Se calculó el porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS) como la suma de los ácidos grasos individuales: C12:0, C14:0, C15:0, C16:0, C17:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0; el porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) se calculó como la suma de C14:1, C16:1, C17:1, C18:1n9t, C18:1n9c, 18:1n-7, C20:1, C22:1n9; y el porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (AGP) como la suma de C18:2n6c, C18:3n6, C18:3n3, C20:2n6, C20:3n6, C20:3n3, C20:4n6, C20:5n3, 22:4n-6, 22:5n-3, C22:6n3.

En el plasma se determinaron las concentraciones de glucosa, colesterol total, triglicéridos, bilirrubina total, ácidos biliares, albúmina y la enzima alanina aminotransferasa (ALT) usando métodos fotométricos. Estos análisis plasmáticos se hicieron en el laboratorio del hospital clínico veterinario de la Universidad CEU Cardenal Herrera mediante un analizador químico estándar Spin modelo 200E (Spinreact, Girona, España).

2.5. Análisis estadístico

Los estadísticos descriptivos se estimaron tras pre-corrregir los datos por los efectos fijos de la línea y sexo. El modelo empleado incluyó los efectos fijos de: línea (GA y GB), sexo (macho y hembra) y orden de parto (con dos niveles, primer parto y segundo y tercer parto agrupados) y el efecto aleatorio de camada.

Los estadísticos descriptivos y la diferencias entre líneas se realizaron con el programa Rabbit (Instituto de Ciencia y Tecnología Animal, UPV) utilizando estadística bayesiana (Blasco, 2017). Se asumieron a priori planos para todos los efectos y varianzas. Las distribuciones marginales posteriores se obtuvieron con muestreo de Gibbs. La convergencia fue testada usando el criterio Z de Geweke y los errores de Monte Carlo

fueron obtenidos por series temporales. Las cadenas de Monte Carlo tenían 60.000 iteraciones, un burn-in de 10.000 y solo consideramos una de cada 10 iteraciones.

Los parámetros obtenidos de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias, se obtuvieron los siguientes parámetros: la mediana (D), el intervalo de mayor densidad posterior con un 95% de probabilidad (HPD_{95%}), la probabilidad de la diferencia de ser mayor que cero si la mediana es positiva, o menor que cero si la mediana es negativa (P₀).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

La tabla 1 muestra los parámetros descriptivos de la grasa intramuscular y del hígado, así como de los de los caracteres de la canal.

Tabla 1. Parámetros descriptivos de la grasa intramuscular y del hígado y caracteres de la canal.

Características	Media	Mediana	DE	CV
GIM (g/100g músculo)	1.08	1.08	0.13	12.3
GH (g/100g Hígado)	3.83	3.83	0.41	10.8
Peso vivo (g)	1872	1872	195	10.4
Peso de la canal comercial (g)	1030	1030	124	12.1
Peso de la canal de referencia (g)	831	831	109	13.1
Peso grasa escapular (g)	4.10	4.10	1.41	34.5
Peso grasa perirrenal (g)	10.0	10.0	4.09	40.8
Peso hígado (g)	60.3	60.3	10.9	18.1
% Grasa disecable	1.68	1.68	0.48	28.4
% Peso del hígado	7.3	7.3	1.09	15.0

GIM: grasa intramuscular; GH: grasa del hígado; DE; desviación estándar; CV; coeficiente de variación.

El contenido medio de grasa intramuscular del lomo fue de 1.08g/100g de músculo. Estos resultados concuerdan con los publicados previamente en animales de generaciones anteriores de este mismo experimento (Martínez- Álvaro et al., 2016, 2017). La cantidad media de la grasa del hígado fue de 3.8 (g/100g de hígado). Resultados similares fueron obtenidos por (Gondret et al., 1997).

La media del peso vivo, canal comercial, peso de la canal, peso de la referencia y peso del hígado son similares a los obtenidos con el conjunto de todos los animales de la generación 10 de este experimento (datos no publicados).

Respecto al engrasamiento de la canal, la grasa perirrenal es el mayor deposito en las canales de conejo (Hernández y Gondret, 2006) con un peso medio de 10 g (Tabla1). Los valores obtenidos del peso de la grasa perirrenal, escapular, así como el % de grasa disecable de la canal son similares a los obtenidos con todos los animales de la generación 10 (datos no publicados). El porcentaje de grasa disecable fue de 1.68% lo que pone en manifestó que la canal de conejo es una canal muy magra en comparación con otras especies (Lawrie y Ledward, 2006).

En la Tabla 2 se muestran los estadísticos descriptivos de la concentración de los parámetros sanguíneos relacionados con el hígado en conejo. Las concentraciones medias

de todos los metabolitos del plasma analizados se encuentran dentro el rango de valores normales para conejos (Nowlan et al.,2015; Washitong y Van Hossier, 2012)

Tabla 2. Estadísticos descriptivos de los parámetros del plasma sanguíneo relacionados con la función hepática.

Parámetros del plasma	Media	Mediana	DE	CV
Ácidos biliares (mol/ml)	15.6	15.6	7.33	47.9
Albúmina (g/dl)	3.09	3.09	0.62	21.0
Bilirrubina T(mg/dl)	0.03	0.03	0.01	53.9
ALT/GPT (UI/l)	11.6	11.7	3.16	27.0
Colesterol (mg/dl)	48.1	48.1	16.4	34.0
Triglicéridos (mg/dl)	82.1	82.1	32.0	39.7
Glucosa (mg/dl)	115	115	34.1	30.6

ALT: alanina transaminasa; DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

La Tabla 3 muestra los estadísticos descriptivos del perfil de ácidos del hígado de conejo. El porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS) fue del 41%. Los ácidos grasos saturados predominantes fueron ácido palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) con un 20% y 19%, respectivamente. El porcentaje de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) fue del 17% siendo el ácido oleico (C18:1n9c) el AGM mayoritario con un 14%. El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados fue de un 42% siendo el linoleico (C18:2n6) el mayoritario con un 29% seguido del araquidónico (C20:4n6) con un 8%. Tres et al. (2009) reportaron la composición de ácidos grasos del hígado en conejos alimentados con distintas dosis de grasa vegetal. Los porcentajes de AGS, AGM y AGP en animales alimentados con 1.5% de grasa vegetal fueron de 41%, 16% y 43%, respectivamente, valores similares a los obtenidos en nuestro trabajo (tabla 3).

Martínez-Álvaro et al. (2017) reportó la composición de ácidos grasos del músculo *Longissimus* de conejos de la generación octava de este mismo experimento. Los porcentajes de AGS, AGM y AGP fueron de 38.2, 24.8 y 41.8 % respectivamente. Destaca el menor porcentaje de AGM obtenidos en el hígado respecto al músculo.

Tabla 3. Estadísticos descriptivos del porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP) en el hígado de conejo.

Cantidad total de grasa (%)	Media	Mediana	DE	CV
C12:0	0.021	0.021	0.006	28.1
C14:0	0.465	0.464	0.167	36.0
C15:0	0.282	0.282	0.045	15.9
C16:0	20.1	20.1	2.028	10.1
C17:0	0.901	0.901	0.161	17.9
C18:0	19.2	19.2	1.360	7.1
C20:0	0.056	0.056	0.007	12.1
C22:0	0.027	0.027	0.006	23.3
C24:0	0.030	0.030	0.006	20.3
AGS	41.0	41.0	1.3	3.1
C14:1	0.013	0.013	0.009	69.6
C16:1	0.664	0.664	0.281	42.3
C17:1	0.177	0.177	0.047	26.4
C18:1n9t	0.117	0.117	0.040	34.4
C18:1n9c	13.6	13.6	2.134	15.7
C18:1n7	1.688	1.688	0.229	13.6
C20:1	0.364	0.364	0.101	27.7
C22:1n9	0.046	0.046	0.011	24.8
AGM	16.7	16.7	2.7	15.9
C18:2n6	29.1	29.1	2.325	8.0
C18:3n6	0.124	0.124	0.037	30.0
C18:3n3	0.720	0.720	0.132	18.4
C20:2n6	1.152	1.152	0.276	23.9
C20:3n6	1.093	1.094	0.165	15.1
C20:3n3	0.099	0.099	0.022	22.3
C20:4n6	8.2	8.2	1.011	12.4
C20:5n3	0.059	0.059	0.028	47.4
C22:4n6	1.108	1.109	0.179	16.2
C22:5n-3	0.431	0.431	0.072	16.8
C22:6n-3	0.171	0.171	0.051	29.7
AGP	42.2	42.2	3.22	7.63

DE: desviación estándar; CV: coeficiente de variación;

AGS = C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0 + C22:0 + C24:0

AGM = C14:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1n9t + C18:1n9c + 18:1 n-7 + C20:1 + C22:1n9

AGP = C18:2n6 + C18:3n6 + C18:3n3 + C20:2n6 + C20:3n6 + C20:3n3 + C20:4n6 + C20:5n3 + 22:4n-6 + 22:5n-3 + C22:6n-3

La tabla 4 muestra la respuesta directa a la selección por GIM y las respuestas correlacionadas para la grasa del hígado y caracteres de la canal. La respuesta directa para GIM en la décima generación (considerando la submuestra de datos utilizados en este estudio) fue de 0.52 g/100 g, que representa un 48% de la media o 4 desviaciones típicas

del carácter. Hasta el momento, este es el único experimento de selección por GIM en conejo. Los experimentos existentes en otras especies (Sapp *et al.*, 2002, en vacuno; Zhao *et al.*, 2007, en pollos; Schwab *et al.*, 2009, en cerdos) también mostraron altas respuestas a la selección por grasa intramuscular.

Tabla 4. Características de las distribuciones marginales posteriores de las diferencias entre líneas en grasa intramuscular (GIM) y del hígado (GH) y en caracteres de la canal.

Características	D¹	HPD_{95%}²		P₀³
GIM (g/100g músculo)	0.52	0.43	0.60	1.00
GH (g/100g hígado)	-0.05	-0.28	0.22	0.65
Peso vivo (g)	-35.1	-165	81.00	0.71
Peso de la canal comercial (g)	-25.9	-108	57.0	0.72
Peso de la canal de referencia (g)	-16.7	-88.00	53.0	0.69
Peso grasa escapular (g)	0.58	-0.40	1.44	0.90
Peso grasa perirrenal (g)	3.87	1.11	6.46	1.00
Peso hígado (g)	3.85	-3.30	10.95	0.86
% Grasa disecable	0.59	0.29	0.93	1.00
% Hígado	0.66	-0.01	1.33	0.97

¹ Mediana de la distribución marginal posterior de la diferencia entre las líneas de alto y bajo contenido de grasa intramuscular GIM.

² Región con mayor densidad posterior con 95% de probabilidad.

³ Probabilidad de que la diferencia sea mayor que 0 cuando $D > 0$ o menor que 0 cuando $D < 0$.

No observamos diferencias entre líneas en el porcentaje de grasa del hígado. Por el contrario, la selección por GIM tuvo una respuesta correlacionada positiva en el porcentaje de hígado de la canal, siendo mayor en la línea GA que en la GB. Martínez-Álvaro *et al.* (2017) en la octava generación de este experimento de selección obtuvo una respuesta correlacionada positiva en el peso del hígado, observando una diferencia entre GA y GB de 2.39 g ($P_0 = 0.99$). En nuestro trabajo la diferencia observada fue de 3.85 pero con una evidencia menor ($P_0 = 0.86$). Dado que el hígado es el tejido con mayor actividad lipogénica en conejos en crecimiento (Gondret *et al.*, 1997), el mayor tamaño del hígado podría estar relacionado con una mayor deposición de grasa en la línea GA respecto a la GB.

La selección por GIM no afectó al peso vivo, peso de la canal comercial ni al peso de la canal de referencia (Tabla 4). Martínez-Álvaro *et al.* (2016) en la séptima generación y Zomeño *et al.* (2013) en la tercera generación, tampoco encontraron diferencias relevantes entre líneas para el peso vivo y de la canal. En otros experimentos de selección por GIM no se muestra un patrón consistente en la respuesta correlacionada en el peso de la canal. Zhao *et al.* (2007) reportó un incremento significativo en pollos, mientras que Sapp *et al.* (2002) en vacuno y Schwab *et al.* (2009) en cerdo no obtuvieron una respuesta correlacionada.

El peso de la grasa perirrenal y porcentaje de grasa disecable de la canal fueron superiores en la línea GA que en la GB (Tabla 4). La diferencia entre líneas para la grasa perirrenal fue de 3.87 g, y para el porcentaje de grasa de la canal fue 0.59. No hubo respuesta correlacionada a la selección por GIM en el peso de la grasa escapular. En la séptima generación de este experimento de selección se observaron resultados similares (Martínez-Álvaro *et al.*, 2016). En otros experimentos de selección por GIM se obtuvieron respuestas correlacionadas positivas en los depósitos grasos de la canal

(Schwab et al., 2009 en cerdos y Zhao et al., 2007 en pollos). No obstante, en conejo, el incremento de grasa disecable de la canal debido a la selección por alta GIM no tiene grandes consecuencias sobre el deterioro de la calidad de la canal, ya que es una canal muy magra (grasa disecable 1.68%, tabla 1). Sin embargo, esto podría ser problemático en otras especies de mayor tamaño, donde la selección por alta GIM podría deteriorar la calidad de la canal.

La Tabla 5 muestra diferencias entre las líneas de conejo de alto y bajo contenido de GIM en metabolitos plasmáticos relacionados con el metabolismo del hígado. No se encontraron diferencias entre líneas para las concentraciones de ácidos biliares, albumina, bilirrubina, colesterol y glucosa. Sin embargo, la línea GB presentó mayor concentración de triglicéridos que la línea GA, lo que coincide con los resultados de Martínez-Álvaro et al. (2017).

En animales seleccionados por diferentes criterios, se ha observado una relación negativa entre los lípidos plasmáticos y la deposición de grasa en la carcasa (Bakke, 1975 seleccionando para ganancia de peso vivo y porcentaje de magro, y Pond et al., 1992 seleccionando por colesterol en plasma, ambos en cerdos). En ratas se observó que altas concentraciones en plasma de lipoproteínas ricas en lípidos inhibían la síntesis de ácidos grasos en el hígado (Lakshmanan et al., 1977). La mayor concentración de triglicéridos en plasma en la línea GB sugiere que hay una menor absorción por los músculos y depósitos de grasa que en la línea GA. La liberación de los lípidos plasmáticos al tejido muscular y graso está limitada por la actividad de la enzima lipoprotein lipasa cuya actividad podría estar teniendo una gran influencia en la diferente deposición de grasa de nuestras líneas.

La línea GA mostró mayor concentración de la ALT que la línea GB (Tabla 5), estos resultados coinciden con los resultados de Martínez-Álvaro et al., (2017) en conejos de la octava generación de este mismo experimento. La ALT está involucrada en el metabolismo de los aminoácidos y una alta concentración plasmática de esta enzima en el torrente sanguíneo indica un daño hepático (Frayn, 1998). Existe escasa información sobre la relación de GIM con la ALT plasmática, pero Pond et al., (1997) en cerdos observó una mayor adiposidad de la carcasa en animales con mayor concentración de ALT.

Tabla 5. Diferencias entre líneas de conejo de alto y bajo contenido de grasa muscular (GIM) en metabolitos plasmáticos.

Parámetros del plasma	D¹	HPD_{95%}²		P₀³
Ácidos biliares (mol/ml)	-2.10	-7.15	2.61	0.81
Albumina (g/dl)	0.29	-0.17	0.74	0.89
Bilirrubina T(mg/dl)	0.00	-0.01	0.01	0.64
ALT/GPT (UI/l)	2.6	0.46	4.9	0.99
Colesterol (mg/dl)	-3.95	-16.7	8.4	0.74
Triglicéridos (mg/dl)	-34.0	57	-11.2	1.00
Glucosa (mg/dl)	-1.87	-23.9	21.9	0.56

ALT/ GPT = alanina transaminasa.

¹ Mediana de la distribución marginal posterior de la diferencia entre las líneas seleccionadas por alto y bajo contenido de grasa intramuscular GIM

² Región con mayor densidad posterior con 95% de probabilidad.

³ Probabilidad de que la diferencia sea mayor que 0 cuando D > 0 o menor que 0 cuando D < 0.

La tabla 6 muestra las diferencias entre líneas del perfil de ácidos grasos del hígado en los conejos de la décima generación. No se encontró diferencia entre las líneas en el total de ácidos saturados, pero si hubo diferencias en los ácidos grasos saturados individuales. La línea GB presentó mayor porcentaje de C15:0 y C17:0 ($P_0 = 0.99$ y 1.00 , respectivamente) y la línea GA mayor porcentaje de C22:0 y C24:0.

En los ácidos grasos monoinsaturados se observaron diferencias entre las líneas. La línea GA mostró mayor porcentaje del total de AGM ($D= 2.1$; $P_0= 0.99$) y mayores porcentajes de los AGM individuales C16:1, C17:1, C18:1n9c y C18:1n-7 ($P_0= 0.97- 0.99$). En cuanto al total del porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados hubo diferencias entre las líneas, siendo mayor en la línea GB ($D= -2.5$; $P_0 = 0.99$). En la GB se observaron mayores porcentajes de C18:2n6, C18:3n3, C20:2 y C20:5n-3. Hasta el momento hay solo tres experimentos de selección por GIM, en pollos (Zhao., et al.,2007), en cerdos (Schwab et al., 2009), en vacas (Sapp et al.,2002) y ningún de ellos se estudió la respuesta correlacionada en el perfil de ácidos grasos del hígado.

Martínez-Álvaro et al. (2018) en la séptima generación de este experimento, estudió la respuesta correlacionada en la composición de ácidos grasos del músculo. Al igual que hemos observado en el hígado, la selección por GIM condujo a una modificación en la composición de ácidos grasos. La respuesta observada fue similar en el músculo y en el hígado, la línea GA mostró un mayor porcentaje de AGM y menor de AGP, aunque las diferencias fueron mayores en el caso del músculo ($D=9.20$ en AGI; $D=-10.3$ en AGP), sin diferencias entre líneas en el porcentaje de AGS.

Tabla 6 muestra las diferencias del perfil de ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturado (AGM) y poliinsaturados (AGP) en conejos de la décima generación.

Cantidad total de grasa (%)	D ¹	HPD _{95%} ²		P ₀ ³
C12:0	0.001	-0.003	0.005	0.66
C14:0	0.056	-0.046	0.176	0.84
C15:0	-0.053	-0.083	-0.025	1.00
C16:0	0.436	-0.921	1.732	0.74
C17:0	-0.141	-0.244	-0.031	0.99
C18:0	0.119	-0.784	0.987	0.60
C20:0	0.001	-0.004	0.004	0.60
C22:0	0.003	-0.001	0.007	0.94
C24:0	0.005	0.001	0.009	0.99
AGS	0.424	-0.365	1.16	0.87
C14:1	0.004	-0.002	0.010	0.91
C16:1	0.227	0.040	0.421	0.99
C17:1	0.033	0.002	0.066	0.98
C18:1n9t	0.015	-0.010	0.042	0.88
C18:1n9c	1.708	0.157	3.226	0.99
C18:1n7	0.136	-0.007	0.281	0.97
C20:1	-0.016	-0.080	0.047	0.69
C22:1n9	0.004	-0.003	0.011	0.84
AGM	2.096	0.262	4.042	0.98
C18:2n6	-2.307	-3.918	-0.560	1.00
C18:3n6	0.004	-0.019	0.029	0.64
C18:3n3	-0.106	-0.195	-0.015	0.99
C20:2n6	-0.152	-0.320	0.011	0.97
C20:3n6	0.031	-0.073	0.132	0.73
C20:3n3	-0.006	-0.020	0.007	0.82
C20:4n6	0.095	-0.666	0.787	0.61
C20:5n3	0.010	-0.008	0.029	0.85
C22:4n6	0.008	-0.114	0.129	0.56
C22:5n3	-0.034	-0.076	0.014	0.94
C22:6n3	-0.012	-0.044	0.020	0.78
AGP	-2.515	-4.752	-0.289	0.99

AGS = C12:0 + C14:0 + C15:0 + C16:0 + C17:0 + C18:0 + C20:0 + C22:0 + C24:0.

AGM = C14:1 + C16:1 + C17:1 + C18:1n9t + C18:1n9c + 18:1 n-7 + C20:1 + C22:1n9.

AGP = C18:2n6 + C18:3n6 + C18:3n3 + C20:2n6 + C20:3n6 + C20:3n3 + C20:4n6 + C20:5n3 + C22:4n6 + C22:5n3 + C22:6n3.

¹ mediana de la distribución marginal posterior de la diferencia entre las líneas seleccionadas por alto y bajo contenido de grasa intramuscular GIM

²Región con mayor densidad posterior con 95% de probabilidad.

³ Probabilidad de que la diferencia sea mayor que 0 cuando D > 0 o menor que 0 cuando D < 0.

4. CONCLUSIONES

La respuesta directa para GIM en la décima generación fue de 0.52 g/100 g (48% de la media).

El hígado juega un papel importante en la deposición de las líneas seleccionadas divergentemente por GIM ya que se observó una respuesta correlacionada positiva en el porcentaje de hígado de la canal y en el peso del hígado, siendo mayor en la línea GA que en la GB. El contenido de grasa del hígado fue de un 3.8%. No se encontraron diferencias entre líneas en el contenido de grasa del hígado, pero la selección por GIM condujo a una modificación en la composición de ácidos grasos del hígado. La línea de alta GIM mostró un mayor porcentaje de AGM y menor de AGP sin diferencias entre líneas en el porcentaje de AGS.

En los metabolitos plasmáticos, se observó mayor concentración de triglicéridos en GB respecto a GA sin diferencias entre líneas en el resto de metabolitos estudiados. La línea GA tuvo una mayor actividad de la alanina aminotransferasa en plasma.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue financiado por Proyecto del Ministerio de Economía y Competitividad AGL2017-86083-C2-1-P-AR. Agradezco a la Dra. Pilar Hernández y Dra. Marina Martínez Álvaro por permitirme trabajar en su equipo, por su apoyo y paciencia durante la etapa de redacción de este documento. También a Agustina Zubiri por su apoyo durante los trabajos de laboratorio. A mis padres y a mis ocho hermanos por el amor y aliento durante este periodo. Al Programa Nacional de Becas y Crédito Educativo (PRONABEC) del estado Peruano por brindarme el soporte económico.

LITERATURA CITADA

- Ballard, F.J., Hanson, R.W., & Kronfield, D.S. (1969). Gluconeogenesis and lipogenesis in tissue from ruminant and non-ruminant animals. *Federation Proceedings* 28, 218-231.
- Blasco, A. & Ouhayoun J. (1996). Harmonization of Criteria and Terminology in Rabbit Meat Reserch. Revised Proposal. *World Rabbit Science*, 4, 93–99.
- Blasco, A (2017). Bayesian analysis for animal scientists. Springer, New York, USA.
- Ciobanu, D.C., Lonergan, S.M. & Huff- Lonergan, E.J. (2011). Genetics of meat quality and carcass traits. In: M.F. Rothschild and A. Ruvinsky. *The genetics of the pig*. CAB Int. Oxfordshire (UK). pp. 355-389.
- O'Fallon, J.V., Busboom, J.R., Nelson, M.L., & Gaskins, C.T. (2007). A direct method for fatty acid methy ester synthesis: Application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. *Journal of Animal Science*, 85,1511-1521.
- Gondret, F., Mourot, J. & Bonneau, M. (1997). Developmental Changes in Lipogenic enzymes in muscle Compared to Liver and extramuscular adipose tissues in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Comparative Biochemical Physiology*, 117: 259-265.
- Gondret, F., H. Juin, H., Mourot, J. & Bonneau, M. (1998). Effect of age at slaughter on chemical traits and sensory quality of Longissimus lumborum muscle in the rabbit. *Meat Science*, 48,181–187.
- Hernández, P., Pla, M., Oliver, M.A. & A. Blasco, A. (2000). Relationships between meat quality measurements in rabbits fed with three diets of different fat type and content. *Meat Science*, 55, 379–384.
- Hernández, P., & Gondret, F. (2006). Rabbit meat quality and safety. En L. Maeterns & P. Coundert (Eds.), *Recent Advances in Rabbit Sciences* (pp. 267–290). Belgium.
- Lawrie, R. A., & Ledward, D. A. (2006). The structure and growth of muscle. En W. Publishing (Ed.), *Lawriwe´s Meath Science* (7 Edition). Cambridge, England.
- Mateescu, R.G. (2015). Genetics of meat quality. In: D.J. Garrick and A. Ruvinsky, editors. *The genetics of cattle* 2nd Edn. CAB Int, Oxfordshire, UK. pp. 544-570.
- Martínez-Álvaro, M., P. Hernández, & A. Blasco. (2016). Divergent selection on intramuscular fat in rabbits: Responses to selection and genetic parameters. *Journal of Animal Science*, 94, 4993-5003.
- Martínez-Álvaro, M., Paucar, Satué K, Blasco, A., & Hernández, P. (2017). Liver metabolism traits in two rabbit lines divergently selected for intramuscular fat. *Animal*. 12.6, pp 1217-1223
- Martínez-Álvaro, M., Blasco, A., & Hernández, P. (2018). Efect of selection for intramuscular fat on the fatty acid composition of rabbit meat. *Animal*. 12:10, pp 2002-2008.

- Nowland, M. H., Bramer, D. W., García, A., & Rush, H. G. (2015). Biology and Diseases of Rabbits. In *Laboratory Animal Medicine* (pp. 411–461).
- Schwab, C.R., Baas, T.J., Stalder K.J., & Nettleton, N. (2009). Results from six generations of selection for intramuscular fat in Duroc swine using real-time ultrasound. I. Direct and correlated phenotypic responses to selection. *Journal of Animal Science*, 87, 2774–2780.
- Sapp, R. L., Bertrand, J. K., Pringle, T. D., & Wilson, D. E. (2002). Effects of selection for ultrasound intramuscular fat percentage in Angus bulls on carcass traits of progeny. *Journal of Animal Science*, 80, 2017–2022.
- Tres A, Bou R, Codony C & Guardiola F (2009). Dietary n-6- or n-3-rich vegetable fats and α -tocopheryl acetate: effects on fatty acid composition and stability of rabbit plasma, liver and meat. *Animal*, 3, 1408–1419.
- Washington, I. M., & Van Hoosier, G. V. (2012). Chapter 3 - Clinical Biochemistry and Hematology. En M. A. Suckow, K. A. Stevens, & R. P. Wilson (Eds.), *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents* (pp. 57–116).
- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, & R. I., Whittington, F. M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78, 343–358.
- Zhao, G. P., Chen, J. L., Zheng, M. Q., Wen, J., & Zhang, Y. (2007). Correlated responses to selection for increased intramuscular fat in Chinese quality chicken line. *Poultry Science*, 86, 2309–2314.
- Zomeño, C., Juste, V., & Hernández, P. (2012). Application of NIRS for predicting fatty acids in intramuscular fat of rabbit. *Meat Science*, 91, 155–159.
- Zomeño, C., Hernández, P., & Blasco, A. (2013). Divergent selection for intramuscular fat content in rabbits. I. Direct response to selection. *Journal of Animal Science*, 91, 4526–4531.