

EFECTO DE LA SOBREALIMENTACIÓN SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CANAL Y LA DEGRADACIÓN *POSTMORTEM* DE LA VINCULINA Y TROPONINA-T EN CARNE DE NOVILLOS DOBLE PROPÓSITO

Overfeeding Effects on Beef Carcass Traits and Postmortem Degradation of Vinculin and Troponin-T in Dual Purpose Steers

Soján Uzcátegui-Bracho^{*,1}, Nancy Jerez-Timaure^{**},
Ana Zuley Ruiz^{***}, Richard Araneda^{***}, María Teresa Sulbaran^{**}

**Facultad de Ciencias Veterinarias, Núcleo Agropecuario, Universidad del Zulia, Apartado 15252, Maracaibo 4005-A, estado Zulia, Venezuela. ** Facultad de Agronomía, Núcleo Agropecuario, Universidad del Zulia, Apartado 15205, Maracaibo 4005, estado Zulia, Venezuela.*

****Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, Apartado 4563, Maracay 2101, estado Aragua, Venezuela*

Correo-E:sojanuzcategui@gmail.com

Recibido: 07/01/09 - Aprobado: 11/12/09

RESUMEN

El efecto de sobrealimentación sobre las características de la canal y la degradación de la vinculina y la troponina-T a tres tiempos *postmortem* (0, 24 y 48 h), fue evaluado en 10 novillos doble propósito de 21 m de edad. Los animales fueron segregados al azar en dos tratamientos durante 12 m, como sigue: Tratamiento 1 (T1): cinco (5) novillos (grupo testigo) alimentados con heno (*Cynodon nlemfuensis*), más 20% de concentrado (relación heno:concentrado = 80:20, para una ganancia diaria de peso (GDP) de 100 g/d). Tratamiento 2 (T2): cinco (5) novillos alimentados con heno (*Cynodon nlemfuensis*), más 40% de concentrado (relación heno: concentrado = 60:40, para una GDP de 500 g/d). Las canales fueron evaluadas, para las características cualitativas y cuantitativas a las 24 h *postmortem*. Para evaluar la degradación de vinculina y troponina-T mediante la técnica de *Western Blot*, se colectaron 0,5 g del músculo *longissimus dorsi* de cada media canal al beneficio (0, 24 y 48 h *postmortem*). El análisis de varianza

ABSTRACT

The effect of overfeeding on carcass characteristics and on degradation of vinculin and troponin-T at three different *postmortem* times (0, 24, and 48 h) were evaluated in dual purpose steers. A total of 10 steers, 21 months of age was used. The animals were randomly selected and allocated to two different treatment protocols for 12 months, as follows: Treatment 1 (T1): Five steers (Control Group) fed with a diet consistent of hay (*Cynodon nlemfuensis*) plus concentrate, with a hay/concentrate ratio of 80:20, to reach a daily weight gain (DWG) of 100 g/d; Treatment 2 (T2); five steers fed with hay (*Cynodon nlemfuensis*) plus concentrate with a hay/concentrate ratio of 60:40, to obtain a DWG of 500 g/d. Carcasses were assessed for both qualitative and quantitative characteristics at 24 h *postmortem*. To evaluate the degradation of vinculin and troponin-T at three different times (0, 24, and 48 h *postmortem*), 0.5 g of the *longissimus dorsi* muscle was collected from each half carcass and subjected to a *Western*

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

(ANAVAR) incluyó el peso de los animales al inicio del ensayo como covariable. Los resultados indicaron que las canales de los novillos sobrealimentados mejoraron sus características en canal, presentando mayor área del ojo costal, mayor espesor de grasa y mayor madurez ósea ($P < 0,05$), sin alcanzar niveles adecuados de acabado de grasa. Se observó que la sobrealimentación no varió el patrón de degradación de la vinculina y la troponina-T a ningún tiempo *postmortem*. La vinculina se degradó a partir de las 24 h *postmortem*; sin embargo, no se detectó degradación de la troponina-T. Estos resultados deben ser confirmados con un número mayor de animales junto con la evaluación cuantitativa de la expresión de las proteínas.

(Palabras clave: Ganado bovino, sobre alimentación, canal animal, fibras musculares, proteólisis, textura de la carne)

INTRODUCCIÓN

El ganado doble propósito (DP) en Venezuela, es el mestizo lechero originado por cruces de razas criollas o cebuínas con razas europeas, por lo general Holstein o Pardo Suizo (Rodríguez y Verde, 1996). Esta modalidad permite producir leche y carne de forma comercial con el mismo rebaño, utilizando insumos locales y de bajo costo (González-Hernández, 2008). Es cierto que la adaptabilidad del ganado DP a las regiones tropicales del país está comprobada (Capriles, 1982); sin embargo, estos animales poseen características de tipo productivo y reproductivo que ameritan mejoras en el manejo y alimentación.

Es bien conocido que la carne de animales Cebú se caracteriza por ser menos blanda, cuando se compara con animales de razas europeas (Wheeler *et al.*, 2001), y este es un aspecto relevante en los países latinoamericanos, ya que la inclusión de ganado doble propósito para la producción de carne es una necesidad por razones agroclimáticas (Soria y Corva, 2004).

El proceso de ablandamiento o maduración de la carne es principalmente enzimático (Sentandreu *et al.*, 2002; Koohmaraie y Geesink, 2006), el cual es el responsable de conferirle a las carne sus

blot analysis. Samples were analyzed by ANOVA. The analysis included the weight of the animals as a covariance. The results of the present investigation indicate that the carcasses of overfed steers exhibited better carcass traits, showing larger loin eye areas, back fat thickness, and a skeletal maturity ($P \leq 0.05$), without reaching adequate levels of fat finish. It was also observed that overfeeding did not change the pattern of degradation of vinculin and troponin-T at any *postmortem* time. Vinculin showed degradation at 24 h *postmortem* while troponin-T was not degraded. These results must be confirmed using a greater number of animals and a quantitative evaluation of protein expression.

(Key words: Cattle, overfeeding, carcasse, muscle fibres, proteolysis, meat texture)

propiedades de textura, sabor y aroma (Swatland, 1999), luego de haber sido almacenada bajo refrigeración. Los cambios estructurales producidos por la acción de sistemas enzimáticos endógenos se encuentran relacionados con la degradación de proteínas miofibrilares responsables de la estructura muscular (Taylor *et al.*, 1995). Entre los principales sustratos de estas enzimas se encuentran las proteínas inter-miofibrilares (desmina y vinculina), las intra-miofibrilares (titina, nebulina y posiblemente la troponina-T), las costámeras (vinculina y distrofina) y las que unen las células musculares a la lamina basal (laminina y fibronectina) (Koohmaraie *et al.*, 2002).

La vinculina es una proteína que forma parte de las costámeras, estructura que mantiene unidas las miofibrillas al sarcolema (Minnetti *et al.*, 1992). Hasta ahora no existe consenso en cuanto a la contribución de la degradación de esta proteína en el ablandamiento de la carne. Taylor *et al.* (1995) han reportado que en carnes blandas la degradación de la vinculina es mayor que en carnes duras. Sin embargo, Koohmaraie *et al.* (1995) indicaron que esta proteína muestra cierta resistencia a la proteólisis *postmortem*, ya que se mantiene intacta durante los primeros 42 d.

La troponina-T es una proteína reguladora que junto a la tropomiosina y troponinas I y C

constituyen el interruptor sensible al Ca^{2+} que regula la contracción de las fibras del músculo estriado. Esta proteína puede ser considerada como un indicador de la proteólisis *postmortem*; sin embargo, como la troponina-T es parte integral de los filamentos finos del músculo esquelético, su rol en el ablandamiento *postmortem* sugiere un estudio más minucioso (Huff-Loneragan *et al.*, 1995; Taylor *et al.*, 1995).

En regiones tropicales la producción de pastos está generalmente afectada por condiciones ambientales tales como la precipitación, encontrándose que un escaso suministro de forraje está asociado con una disminución de su valor nutritivo, lo cual produce una deficiente respuesta animal en términos de producción de carne y/o leche, y problemas reproductivos (Garmendia, 1998). Para mejorar la respuesta animal en los períodos de escasez de forrajes existen diferentes alternativas utilizadas, entre ellas se encuentran los concentrados balanceados, bloques multi-nutricionales y leguminosas forrajeras, entre otras (Razz *et al.*, 2004).

La experiencia en trabajos anteriores indica la relación entre las prácticas de alimentación y la terneza de la carne (Soria y Corva, 2004). En general, se sabe que un mayor nivel de alimentación conduce a una mejora de la terneza, asociada con menor cantidad de tejido conectivo y un marmoleo más abundante (Depetris, 2000). La mayoría de los estudios refiere el efecto de la dieta sobre la terneza, medida por la fuerza de corte con el Warner Blatzler (FCWB) (Casas *et al.*, 2006), por catadores entrenados (Casas *et al.*, 2006), ó por la actividad de las enzimas encargadas de degradar las proteínas miofibrilares (Koochmaraie *et al.*, 2002), pero no enfocan el efecto de la dieta sobre la proteólisis *postmortem*, que origina en parte la terneza de la carne.

Los efectos de la dieta y/o suplementación sobre la calidad de la canal y de la carne de bovinos han sido poco estudiados en la América Tropical. En Venezuela, los trabajos se han enfocado en el estudio del efecto de la suplementación en animales a pastoreo y no en el suministro de raciones energéticas en animales estabulados. Huerta-Leidenz *et al.* (1997b) indican que los animales producidos a base de forrajes presentan canales con menos marmoleo, de color muscular más oscuro, carnes menos firmes, de textura más áspera y menos blandas que los animales producidos con base a granos. En contraste, existen

reportes que indican que el tipo de alimentación no afecta la terneza, el sabor, el color, ni el marmoleo de la carne de animales con similar peso (Muir *et al.*, 1998).

Hasta la fecha no se han realizado estudios del efecto de la dieta sobre la terneza de la carne, en función de la degradación de indicadores del ablandamiento *postmortem*, tales como vinculina y troponina-T. Con base a lo antes expuesto, la presente investigación se planteó como objetivo evaluar el efecto de la sobrealimentación sobre las características de la canal y la degradación de vinculina y troponina-T a tres tiempos *postmortem* en el músculo *longissimus dorsi* de novillos doble propósito.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Para este ensayo, se utilizaron 10 novillos mestizos (3/4 a 1/2 Holstein x Brahman), nacidos contemporáneamente en la Sección de Bovinos del Instituto de Producción Animal de la Facultad de Agronomía (FAGRO, UCV), ubicado en Maracay, estado Aragua. El clima de la zona es bosque seco tropical, con precipitaciones anuales de 1.100 mm, con una rigurosa estación seca y otra lluviosa, y temperaturas medias anuales de 26 °C.

Manejo general y alimentación de los animales

El ensayo tuvo una duración de 12 m y se inició cuando los animales tenían 8 m de edad, con un peso promedio de $107,00 \pm 17$ kg. Los novillos se dividieron en dos grupos, estructurados en un diseño completamente al azar, con dos tratamientos: a saber Tratamiento 1 (T1):5 novillos testigos asignados a una dieta que cubrió los requerimientos para una ganancia diaria de peso (GDP) de 100 g/d, y que correspondió a 20% de alimento concentrado (relación heno: concentrado de=80:20). Tratamiento 2 (T2):5 novillos sobrealimentados, con una dieta que cubría los requerimientos para una GDP de 500 g/d. En este grupo se suministró heno y alimento concentrado en una proporción 60:40. El heno se obtuvo de pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*), el cual contenía 10,39% proteína cruda (PC), 81,1% fibra neutra detergente (FDN) y 36,9% fibra ácida detergente (FAD). El alimento concentrado,

suministrado como suplemento, se elaboró en base de recursos tropicales (13,3% PC; 34,1% FDN; 9,17% FAD; 1,1% Ca; y 1,0% P), cuya composición y aporte nutricional se muestran en las Tablas 1 y 2.

La alimentación fue suministrada a los animales en corrales estabulados ubicados en puestos individuales semi-techados (18 m de largo x 2 m de ancho) y provistos de bebederos automáticos y comederos. Los animales tuvieron 15 d de acostumbamiento; las medidas corporales y el peso de los animales se evaluaron cada 30 d. En la medida en que los novillos fueron ganando peso, se fue ajustando el consumo de alimento por cada tratamiento. Los novillos permanecieron en estas instalaciones alcanzando un peso promedio final de $349,60 \pm 32,10$ kg, a los 21 m de edad. El beneficio de los animales se realizó siguiendo el procedimiento industrial normal (COVENIN, 1986) en el Matadero Industrial Centro-Occidental, ubicado en Barquisimeto, estado Lara.

Evaluación de las características de la canal

A las 24 h *postmortem*, las canales refrigeradas a 0°C fueron evaluadas según el Decreto Presidencial N° 1896 (Venezuela, 1997), para distintas características cualitativas y cuantitativas, tales como la madurez fisiológica que incluye a la madurez ósea, muscular y adiposa. La madurez ósea se evaluó observando el grado de osificación de los cartílagos sacros, lumbares y torácicos, así como la forma y el

color de las costillas, expresándose en letras que van de la A (animales más jóvenes) hasta la E (animales más viejos). A cada letra le correspondió un rango máximo de madurez desde cero (00) hasta el límite de cien (100). Al ser sobrepasado el límite 100 se asigna la siguiente letra por orden alfabético. Las letras con una puntuación progresiva de diez en diez (ej. A00, A10, A20,...A100, B00) se asignaron, en forma independiente a los indicadores esqueléticos, musculares y adiposos de la madurez, permitiendo calcular su contribución porcentual para la determinación de la madurez fisiológica total (Venezuela, 1997). La madurez muscular se determinó por el color de la carne mediante una escala del 1 al 5, donde 1= rosa pálido y corresponde a animales más jóvenes (ternera); y 5=rojo oscuro, para animales más maduros (toros, novillos y novillas). La madurez adiposa se evaluó por el color de la grasa subcutánea, que varía a medida que incrementa la edad de los animales, desde el blanco marfil (animales jóvenes) hasta amarillo intenso (animales viejos) (Venezuela, 1997). El índice de muscularidad se midió de acuerdo al perfil muscular y al área del ojo costal (AOC), empleando una escala de cinco niveles, donde 1=pierna muy convexa y área muy extensa; 2=pierna convexa y área extensa; 3=pierna recta y área ligeramente extensa; 4=pierna ligeramente cóncava y área deficiente; 5= pierna cóncava y área deficiente (Venezuela, 1997). El AOC se determinó con el uso de una plantilla cuadrículada. El marmoleo fue

Tabla 1. Composición y aporte nutricional de las materias primas utilizadas en el suplemento

Materia prima	Aporte nutricional parcial		Inclusión (%)	Aporte nutricional total de la mezcla	
	EM (Mcal/kg.) (¹)	PC (%) (¹)		EM (Mcal/kg.) (²)	PC (%) (²)
Leucaena y/o mataratón	0,703	14,88	3	0,021	0,4464
Maíz	1,731	4,96	38	0,657	1,8848
Morera	0,745	11,16	2	0,014	0,2232
Semilla algodón	1,838	17,36	34	0,625	5,9024
Melaza	1,155	0	10	0,115	0
Fríjol	0,745	11,16	7	0,052	0,7812
Sal	0	0	2	0	0
Úrea	0	178,3	2	0	3,566
Minerales	0	0	2	0	0
	Total		100	1,471	12,804

EM: Energía metabolizable; PC: Proteína cruda; (¹): Ración 1; (²): Ración 2

Fuente: NRC (2001) y Ruiz (2007)

Tabla 2. Composición bromatológica del suplemento y heno (expresados en %)

Componentes	Materia Seca	Proteína Cruda	Cenizas	Extracto etéreo	FDN	FDA	Ca	P
Heno ofrecido	91,13	9,76	9,73	2,59	81,27	41,67	0,68	0,38
Heno rechazado	89,25	9,48	9,76	2,38	77,02	40,87	0,76	0,38
Suplemento ofrecido	89,66	13,30	10,19	9,22	34,31	9,17	1,06	1,00

Fuente: Ruiz (2007) y Seijas (2009)

evaluado con la utilización de patrones fotográficos a color (USDA, 1990), empleando una escala de puntuación de cinco niveles, en donde 1=abundante; 2=moderado; 3=pequeño; 4=ligero; 5=trazas o desprovisto (Huerta-Leidenz, 2002). El espesor de grasa, consistió en la medición con una regla metálica milimetrada a nivel del 12° espacio intercostal, sobre el área del músculo *longissimus dorsi* (USDA, 1990). El acabado de grasa de cobertura general de la canal, se determinó utilizando una escala de cuatro niveles, en donde 1=muy abundante; 2=abundante; 3=medio; 4=ligero y 5=ausente (Venezuela, 1997).

Preparación de las muestras para el estudio de la degradación de vinculina y troponina-T

El estudio de degradación de la vinculina y troponina-T se realizó en tres tiempos *postmortem* diferentes (t1, t2 y t3). La muestra del t1= correspondió a las 0 h *postmortem*, y fue colectada en las canales recién beneficiadas. Las muestras de t2 y t3 se colectaron en las cámaras de enfriamiento a las 24 y 48 h *postmortem*, respectivamente. La temperatura promedio de la cámara de enfriamiento fue de 0°C. La degradación de vinculina y troponina-T, se evaluó mediante la ausencia o presencia de bandas proteicas generadas durante la técnica de *Western Blot*. Las muestras para este análisis estuvieron representadas por 0,5 g del músculo *longissimus dorsi*, a nivel del décimo segundo espacio intercostal. Las muestras fueron conservadas en nitrógeno líquido y transportadas hasta el Laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UCV, donde fueron conservadas a - 80°C, hasta su posterior procesamiento.

Técnica de Western Blot

Se prepararon minigeles de poliacrilamida dodecil sulfato sódico (5 - 10 % p/v) del tipo discontinuo

(SDS-PAGE). En estos geles se descargaron 200 µg de proteínas (cuantificadas mediante un *kit* de BCA, Pierce, Rockford, IL, EUA). Para cada gel se cargaron diferentes estándares de proteínas (Bio-Rad Laboratories, Hercules, C.A., EUA), muestras de tejido muscular bovino (200 µg) y como control positivo, se utilizó tejido muscular de ovejo. Las proteínas fueron separadas mediante un sistema de electroforesis vertical (GIBCO BRL, Life Technologies, Gaithersburg, MD, EUA). La corrida electroforética de cada gel se realizó a 120 V, durante 3 h a 4 °C. Las bandas proteicas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa siguiendo el procedimiento reportado por Ruiz y Kittok (2008), las cuales fueron posteriormente bloqueadas con solución *buffer* TBST (2,42 g de Base Tris + 29,24 g de NaCl + 0,5 mL Tween-20/1 L de H₂O destilada; pH 7,5), que contenía 5% de leche deshidratada y descremada. Este procedimiento se realizó durante 1 h a 4 °C.

Las membranas cargadas con proteínas del tejido muscular bovino, se incubaron con el primer anticuerpo policlonal para la vinculina de humano, producido en cabra (N-19:sc-7649, Santa Cruz Biotechnology, EUA) a una dilución 1:100, y con el primer anticuerpo policlonal para troponina-T de humano, producido en cabra (C-18:sc-8123, Santa Cruz Biotechnology, EUA) a una dilución 1:50, durante 16 - 20 h a 4 °C; posteriormente, fueron lavadas tres veces con TBST durante 5 min. Luego se incubaron con el segundo anticuerpo IgG (molécula completa) de conejo anti-cabra conjugado con la enzima peroxidasa (Sigma St. Loui, MI, EUA) durante 1 h a 4 °C. El segundo anticuerpo fue usado a una dilución de 1:2000 y de 1:1000 para la vinculina y troponina-T, respectivamente.

Las bandas proteicas inmunoreactivas se visualizaron mediante una reacción de quimoluminiscencia (Signal® West Pico; Pierce, Rockford, IL, EUA), expuestas a películas de rayos X durante 10 min. Las

películas de rayos X conteniendo las bandas proteicas, fueron escaneadas (Hewlet Packard Scanjet 3970, Palo Alto CA, EUA) y almacenadas en imágenes de 811 x 614 píxeles (5,41 x 4,10 pulgadas).

Los resultados de expresión proteica no fueron sometidos a un análisis estadístico, por tratarse de una técnica cualitativa, en la que se utilizó una muestra (n=4) por cada membrana.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar el efecto del tratamiento de sobrealimentación sobre las características de calidad de la canal, se realizó un análisis de varianza (ANAVAR), incluyendo la covariable peso de los novillos al inicio del ensayo. Cuando las pruebas dieron significativas ($P < 0,05$) se procedió a realizar la comparación de medias por el método de mínimos cuadrados (LSMEANS), para todos los análisis se utilizó SAS (2000).

El modelo utilizado se expresa como:

$$Y_{ij} = \mu + \text{Tratamiento}_i + \beta x_{ij} + E_{ij}$$

donde:

Y_{ij} = es la respuesta de las variables dependientes, características de calidad en la canal (madurez ósea, muscular y adiposa, madurez fisiológica total, muscularidad, AOC, marmoleo, espesor de grasa y acabado de grasa) de novillos doble propósito.

μ = media general

Tratamiento_i = efecto del i-ésimo tratamiento de sobrealimentación

β = regresión lineal de las variables bajo estudio sobre el peso inicial (kg) de los novillos

x_{ij} = peso inicial de cada novillo

E_{ij} = Efecto asociado al error experimental

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características de la canal

En la Tabla 3 se describen las características de calidad de la canal de los novillos sobrealimentados y testigo en valores de medias mínimo cuadráticas \pm error estándar. El ANAVAR detectó efecto significativo de la sobrealimentación sobre la madurez ósea ($P < 0,05$), el espesor de grasa ($P < 0,02$), y el AOC ($P < 0,001$). Los novillos sobrealimentados

(T2) mostraron una mayor madurez ósea (A74 vs A38), espesor de grasa (1,40 vs 0,0 mm) y AOC (48,12 vs. 37,93 cm²) que los testigos. La madurez muscular de las canales del grupo testigo fue más avanzada (A80) que en los animales del T2 (A68), sin alcanzar la diferencia estadística ($P > 0,05$). El alto contenido energético presente en la dieta suministrada a los novillos sobrealimentados, permitió que éstos depositaran mayor espesor de grasa dorsal, resultados que coinciden con los reportados por Huerta-Leidenz et al. (1997a). La muscularidad de las canales de los novillos sobrealimentados presentó una mejor silueta (perfiles rectos y ligeramente cóncavos) vs francamente cóncavos de los testigos. El marmoleo, en general, se ubicó en nivel "ligero", mientras que el color de la grasa resultó "blanco marfil", característico de animales jóvenes. Las canales en general, no alcanzaron una buena cobertura de grasa (entre "ligera" a "ausente"), hecho que concuerda con el escaso engrasamiento a nivel de los lomos (espesor de grasa promedio menor de 2,5 mm).

Son escasas las investigaciones que se han realizado para estudiar el efecto de la sobrealimentación sobre las características de la canal en animales estabulados; sin embargo, varios trabajos reportan los efectos de la suplementación estratégica sobre estas características en rumiantes. Huerta-Leidenz et al. (1997b) en una revisión de literatura, describen un estudio realizado en los llanos occidentales venezolanos, bajo condiciones de sabanas mejoradas con pasto Tanner (*Brachiaria radicans*), que constó de dos ensayos (Ensayo 1=gallinaza, pulitura de arroz y Rumensin®; Ensayo 2=harina de plumas, harina de arroz, semilla de algodón y Salozim®). Los resultados de ese estudio mostraron que las canales de los animales que fueron suplementados, resultaron significativamente más pesadas, con mejor conformación y más inmaduras fisiológicamente. Por su parte, Khy et al. (2000), compararon dos tipos de alimentación y detectaron que los novillos suplementados con alfalfa y leucaena presentan mejores niveles de engrasamiento en los lomos (Testigo=1,8 mm; alfalfa=4,0 mm; leucaena=3,5 mm). Okello et al. (1994), compararon el efecto de torta de semilla de algodón y Leucaena sobre las características de la canal de caprinos machos (enteros); en este estudio, las canales de los animales alimentados con torta de semilla de algodón presentaron una mejor cobertura de grasa (moderada) que los alimentos con leucaena

Tabla 3. Características de la calidad de la canal de novillos doble propósito sobrealimentados

Variables	T1= Testigos (n=5)	T2= Sobrealimentados (n=5)	Valor P
Madurez fisiológica ósea	138,00 ± 11,61	174,00 ± 11,61	0,005
Madurez fisiológica muscular	180,00 ± 5,19	168,00 ± 5,19	NS
Madurez fisiológica adiposa	160,00 ± 2,82	164,00 ± 2,82	NS
Madurez fisiológica total	163,00 ± 4,50	173,00 ± 4,50	NS
Muscularidad	3,20 ± 0,34	4,00 ± 0,34	NS
AOC. cm ²	37,93 ± 1,56	48,12 ± 1,56	0,001
Marmoleo	3,80 ± 0,26	4,00 ± 0,26	NS
Espesor de grasa. mm	0,00 ± 0,00	1,40 ± 0,36	0,02
Acabado de grasa	4,00 ± 0,28	4,60 ± 0,28	NS

NS: no significativo. La descripción de las variables se encuentra en Materiales y Métodos

(desprovista). Por su parte, Rodas-González *et al.* (2006) no detectaron efecto de la suplementación a pastoreo con alimento concentrado y leucaena sobre las características de la canal de novillos Criollo Limonero. En general, la sobrealimentación de novillos doble propósito permitió obtener animales jóvenes con pesos adecuados en canal y con características en canal más favorables que el grupo testigo.

Degradación de vinculina en el *longissimus dorsi* de novillos sobrealimentados en función del tiempo *postmortem*

La vinculina intacta presenta un peso molecular de 117 kDa, mientras que su forma degradada se detecta por la aparición de una banda de aproximadamente 90 kDa. En el presente trabajo, se evidenció la expresión y degradación de esta proteína por la aparición de ambas bandas (117 y 90 kDa). En la Figura 1, se observa la banda de vinculina intacta (117 kDa) en el *longissimus dorsi* de los novillos tanto sobrealimentados como testigos. También se observó a partir de 24 h *postmortem*, una segunda banda de aproximadamente 90 kDa que corresponde a la vinculina degradada. Estos resultados indican que la dieta no varió la degradación de vinculina. Similar a este trabajo, Taylor *et al.* (1995) detectaron que casi la mitad de la vinculina se degrada durante las primeras 24 h *postmortem*, y que a partir de las 72 h, se degrada completamente. Los mismos investigadores para estudiar la relación de la degradación de vinculina con la terneza de la carne, examinaron la proteólisis el músculo *longissimus dorsi* de seis corderos clasificados como duros o blandos, sobre la base de los valores de FCWB (Taylor *et al.*, 1995). El análisis de *Western Blot* mostró que en

las muestras de los músculos *longissimus* clasificados como blandos, aparecieron bandas de peso molecular de 90 kDa, correspondiente a la vinculina degradada, ausente en las muestras calificadas como duras. Adicionalmente, detectaron que la relación vinculina degradada / vinculina no degradada fue de 4 a 50 veces más elevada en los músculos blandos que en los duros (Taylor *et al.*, 1995). Al observar la degradación de vinculina en las carnes blandas estos investigadores concluyeron que la tasa de degradación *postmortem* de la vinculina, parece estar relacionada con el ablandamiento de la carne.

En contraste con el presente trabajo, Koohmaraie *et al.* (1995) indicaron que la vinculina tiene cierta resistencia a la proteólisis *postmortem*, degradándose completamente después de los 42 d *postmortem*.

De acuerdo a los resultados del presente trabajo, no se observó mayor degradación de la vinculina por efecto de la sobrealimentación, ya que la intensidad de las bandas de 90 kDa es similar en ambos tratamientos. Se ha documentado ampliamente que la proteólisis *postmortem* origina la terneza de la carne (Koohmaraie y Geesink, 2006); sin embargo, no se ha estudiado directamente el efecto de la dieta sobre la degradación de proteínas durante el período *postmortem*. La literatura indica que las estrategias alimenticias dependiendo de su composición, incrementan o disminuyen la terneza de la carne (Andersen *et al.*, 2005), la cual es provocada en parte por la proteólisis *postmortem* de proteínas miofibrilares. Se ha observado que cuando disminuye la degradación de las proteínas *in vivo*, hay un incremento de la tasa de crecimiento muscular, y como consecuencia disminución de la terneza de la carne (Andersen *et al.*, 2005). De acuerdo

C (+)	C (-)	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T1	T1	T1
		0	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48



Figura 1. Representación de la vinculina degradada en el *postmortem* mediante *Western blot*. C (+)=Control positivo; C (-)=Control negativo. T2=Músculo *longissimus dorsi* de novillos sobrealimentados. T1= Músculo *longissimus dorsi* de novillos testigos. t1=0 h *postmortem*; t2 = 24 h *postmortem*; t3=48 h *postmortem*

C (+)	C (-)	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T2	T2	T2	T1	T1	T1
		0	24	48	0	24	48	0	24	48	0	24	48



Figura 2. Representación de la troponina-T intacta en el *postmortem* mediante *Western blot*. C (+) = Control positivo; C (-) = Control negativo. T2 = Músculo *longissimus dorsi* de novillos sobrealimentados. T1 = Músculo *longissimus dorsi* de novillos testigos. t1 = 0 h *postmortem*; t2 = 24 h *postmortem*; t3 = 48 h *postmortem*

con lo expuesto por esos autores, los componentes específicos de una dieta regulan la expresión de genes (μ -calpaina y calpastatina) que participan en la proteólisis *postmortem*, contribuyendo con la terneza de la carne.

La troponina-T intacta tiene un peso molecular de 31 kDa y su degradación es detectada por la aparición de una banda de aproximadamente 30kDa. En la presente investigación, no se observó la banda de la troponina-T degradada (Figura 2). Sin embargo, la troponina-T intacta sólo se expresó durante el t1 (0 h) y en el t2 (24 h *postmortem*) en ambos tratamientos (T1, testigos y T2, sobrealimentados). Estos resultados contrastan con los reportados en la literatura (Huff-Lonergan *et al.*, 1995), mediante la técnica de *Western Blot* que ha detectado una asociación entre el incremento del tiempo *postmortem* y la degradación de la troponina-T. Según Huff-Lonergan *et al.* (1996), la aparición de bandas de 30 y 28 kDa de troponina-T, como la desaparición de las mismas, parecen estar altamente relacionadas con la fuerza de corte. Estos investigadores han observado que en muestras de miofibrillas con alta resistencia al corte, existe una lenta degradación de la troponina-T, que se evidencia por la presencia de las bandas de ambas bandas (30 y 28 kDa) (Huff-Lonergan *et al.*, 1996). Sin embargo, algunos autores (Heinze y Bruggemenn, 1994), sostienen que las troponinas y tropomiosinas tienen poco efecto sobre la terneza de la carne debido a su bajo peso molecular. Taylor *et al.* (1995) por su parte,

mostraron que durante el *postmortem* hay ruptura de las bandas I, y siendo la troponina-T parte del complejo regulador que media la interacción actina-miosina, se puede concebir que su degradación *postmortem* pueda producir cambios que afecten la terneza de la carne.

En el presente trabajo se expresó la troponina-T intacta, por la aparición de una banda de 31 kDa observada en el *longissimus dorsi* los animales sobrealimentados y testigos, lo que permite indicar que el tipo de alimentación utilizada en este ensayo no afecta la degradación de dicha proteína.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La alimentación de animales doble propósito bajo estabulación no es una práctica usual en el país; sin embargo, esta experiencia permitió iniciar estudios sobre la respuesta de este tipo de animal, utilizando dietas altas en energía con recursos energéticos locales como la mata de ratón, morera y la leucaena, como una alternativa para producir novillos jóvenes con adecuados pesos en canal, engrasamiento y con características deseables de calidad de la carne. Las características en canal de los animales sobrealimentados fueron favorecidas por la dieta, mostraron mayor peso en canal, mayor madurez ósea, mejor espesor de grasa, y mayor área del ojo costal.

El tratamiento de sobrealimentación no varió el patrón de degradación observado en la vinculina

y la troponina T en todos los tiempos *postmortem* evaluados.

La vinculina se degradó a partir de las 24 h *postmortem* en ambos tratamientos. No se observó degradación de troponina-T por efecto del incremento del tiempo *postmortem*.

Debido al número de observaciones se consideran estos resultados preliminares, los cuales ameritan ser validados con un mayor número de animales. Además es necesario realizar la cuantificación de la expresión de las proteínas estudiadas. Se recomienda incluir la medición de la FCWB.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT, Proyecto G-2005000446) por el otorgamiento de los recursos económicos para la ejecución de este proyecto de investigación; Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ). Al Matadero Industrial Centro Occidental por la colaboración prestada durante el beneficio de los animales, evaluación en canal, desposte y toma de muestras.

REFERENCIAS

- Andersen, H.J.; Oksbjerg, N.; Young, J.F.; Therkildsen, M. 2005. Feeding and meat quality- a future approach. *Meat Sci.*, 70:543-554.
- Capriles, M. 1982. Sistemas de producción de leche y carne para los llanos occidentales venezolanos. En: *Pearson de Vaccaro Lucía. Sistemas de producción con bovinos en el trópico. Maracay, Venezuela.* UCV Facultad de Agronomía. *Inst. Produc. Anim.*, pp. 89-112.
- Casas E.; White, S.N.; Wheeler, T.L.; Shackelford, S.D.; Koohmaraie, M.; Riley, D.G.; Chase, C.C. Jr; Johnson, D.D.; Smith, T.P. 2006. Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *J. Anim. Sci.*, 84:520-525.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1986. Código de prácticas de higiene para mataderos industriales, mataderos frigoríficos industriales, frigoríficos industriales y salas de matanzas municipales o privadas. 0794-86. Caracas, Venezuela. 21 p.
- Decreto Presidencial N°. 1896. 1997. Gaceta Oficial de la República de Venezuela N°. 36.242. Caracas, Venezuela.
- Depetris, J. 2000. Calidad de la carne vacuna. En: *Producción bovina de carne.* 17-21pp. [en línea]. Dirección URL:http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/12-calidad_de_la_carne_vacuna.pdf. [Consulta: 08 Feb. 2006].
- Garmendia, J. 1998. Suplementación estratégica en la reproducción de vacas de doble propósito. En: *T. Clavero (Ed.). Estrategias de Alimentación para la Ganadería Tropical. Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes.* LUZ. Maracaibo. pp. 43-52.
- González Hernández, O. 2008. La sostenibilidad de la ganadería doble propósito en pequeñas y medianas unidades de producción. En: *Desarrollo Sostenible de la Ganadería Doble Propósito.* (Ed.) González-Stagnaro, C.; Madrid Bury, N.; Soto Beloso, E. pp. 47-57.
- Heinze, P.H.; Bruggemenn, D. 1994. Ageing of beef: influence of two ageing methods on sensory properties and myofibrillar proteins. *Science des Aliments*, 14:387-399.
- Huerta-Leidenz, N. 2002. La experiencia venezolana en la implantación de sistemas de clasificación del ganado y canales bovinas. *Memorias XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal.* ULA, Trujillo. 17 p.
- Huerta-Leidenz, N.; Atencio-Valladares, O.; Rodas-González, A.; Jerez-Timaure, N.; Bracho, B. 1997a. Características de canales de novillos y novillas acebuados producidos a pastoreo y su relación con atributos de la calidad comestible de la carne. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 5 (Supl.1):565-567.
- Huerta-Leidenz, N.; Rodríguez-Matos, C.; Jerez-Timaure, N. 1997b. Efectos de la dieta alimenticia sobre la calidad de la canal y de la carne. En: *D. Plasse, N. Peña de Borsotti y R. Romero (Eds). XIII Cursillo sobre Bovinos de Carne.* Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias, Maracay, 23 y 24 de octubre de 1997, Venezuela. pp. 41-55.
- Huff-Lonergan, E.; Parrish, F.C. Jr.; Robson, R.M. 1995. Effects of *postmortem* aging time, animal age, and sex on the degradation of titin and nebulin in bovine *longissimus muscle*. *J. Anim. Sci.*, 73:1064-1073.
- Huff-Lonergan, E.; Mitsuhashi, T.; Beekman, D.D.; Parrish Jr., F.C.; Olson, D.G.; Robson, R.M. 1996. Proteolysis of specific muscle structural proteins by μ -Calpain at low pH and temperature is similar to degradation in *postmortem* bovine muscle. *J. Anim. Sci.*, 74:993-1008.

- Khy, V.; Prucasari, P.; Kanthapanit, C.; Chtwachirawong, A. 2000. Comparison of growth, feed efficiency and carcass characteristics of Kamphaengsaen steers fed two TMR fiber sources during two different feeding period. *Kasetsart J. Nat. Sci.*, 34:216-226.
- Koohmaraie, M.; Geesink, G.H. 2006. Contribution of *postmortem* muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Sci.*, 74:34-43.
- Koohmaraie, M.; Kent, M.P.; Shackelford, S.D.; Veiseth, E.; Wheeler, T.L. 2002. Meat tenderness and muscle growth: Is there any relationship? *Meat Sci.*, 62:345-352.
- Koohmaraie, M.; Shackelford, S.D.; Wheeler, T.L.; Lonergan, S.M.; Doumit, M.E. 1995. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): Characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J. Anim. Sci.*, 73:3596-3607.
- Minnetti, C.; Beltrame, F.; Marcenaro, G.; Bonilla, E. 1992. Dystrophin at the plasma membrane of human muscle fibers shows a costameric localization. *Neuromusc. Dis.*, 2:99-109.
- Muir, P.D.; Beaker, J.M.; Brown, M.D. 1998. Effects of forage and grain based feeding systems on beef quality. *N. Z. J. Agric. Res.*, 41:623-635.
- Nutrient Requirements of Dairy Cattle (NRC): Seventh Revised Edition, 2001. [en línea]. Dirección URL: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=9825. [Consulta: 10 Ago. 2009].
- Okello, K.L.; Ebong, C.; Opuda-Asibo, J. 1994. Effect of feed supplementation on weight gain and carcass characteristics of intact male Mubende goats fed elephant grass (*Pennisetum purpureum*) ad libitum in Uganda. In: Small Ruminant Research and Development in Africa. Proceedings of Third Biennial Conference of the African Small Ruminant Research Network. Kampala, Uganda. 5-9 December 1994. The Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations. 9pp. 1994. [en línea]. Dirección URL: <http://www.fao.org/wairdocs/ilri/x5473b/x5473b00.htm>. [Consulta: 21 Nov. 2008].
- Razz, R.; Clavero, T.; Combellas, J.; Ruiz, T. 2004. Respuesta productiva y reproductiva de vacas doble propósito suplementadas con concentrado pastoreando *Panicum maximum* y *Leucaena leucocephala*. *Rev. Cient. FCV- LUZ*, 14:526-529.
- Rodas-González, A.; Vergara-López, J.; Arenas de Moreno, L.; Huerta-Leidenz, N.; Pirela, M.F. 2006. Características al sacrificio, rasgos de la canal, y rendimiento carnicero de novillos criollo limonero sometidos a suplementación durante la fase de ceba a pastoreo. *Rev. Cient. FCV-LUZ*, 16:364-370.
- Rodríguez, V. A.; Verde, O. 2006. Avances de la “Ganadería Doble Propósito” en Venezuela. [en línea]. Dirección URL: <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd51/avances.htm>. [Consulta: 29 Abr. 2009].
- Ruiz, A. 2007. Evaluación del crecimiento postdestete en vacunos doble propósito bajo dos niveles de alimentación. Tesis de grado. FAGRO. UCV. Maracay. Venezuela 45 p.
- Ruiz, A.Z.; Kittok, R. 2008. Detección de la subunidad NMDAR-1 del receptor N-metil-D aspartato (NMDAR) en el hipotálamo del ovino mediante el análisis de Western Blot. *Rev. Cient. FCV-LUZ*. 18:148-153.
- SAS. 2000. SAS/STAT User's Guide (Release 6.03). SAS Inst. Inc. Cary, NC, USA.
- Seijas, I. 2009. Efecto de dos niveles de alimentación sobre el crecimiento, algunos metabolitos sanguíneos e insulina en becerros doble propósito postdestete. Tesis de grado FAGRO. UCV. Maracay. Venezuela, 22 p.
- Sentandreu, M. A.; Coulis, G.; Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends. Food Sci. Techn.*, 13:398-419.
- Soria, L.A.; Corva, P.M. 2004. Factores genéticos y ambientales que determinan la terneza de la carne. *Arch. Latinoam. Prod. Anim.*, 12:73-88.
- Swatland, H.J. 1999. Growth & structure of meat animals [en línea]. Dirección URL: <http://www.aps.uoguelph.ca/~swatland/gasman.html>. [Consulta: 10 Mar. 2009].
- Taylor, R.G.; Geesink, G.H.; Thompson, V.F.; Koohmaraie, M.; Goll, D.E. 1995. Is Z-disk degeneration responsible for *postmortem* tenderization?. *J. Anim. Sci.*, 73:1351-1367.
- United States Department of Agriculture (USDA). 1990. Livestock and poultry: World Markets and trade. Circular Series DL & P 2-07.
- Wheeler, T.L.; Cundiff, L.V.; Shackelford, S.D.; Koohmaraie, M. 2001. Characterization of biological types of cattle (Cycle V): Carcass traits and longissimus palatability. *J. Anim. Sci.*, 79:1209-1222.