



Tecnología Agroalimentaria

Boletín informativo del SERIDA

Número 24 - 2021

■ Las cajas nido ayudan a controlar las plagas del manzano ■ Sostenibilidad del cultivo de la Faba Asturiana ■ Comportamiento de la semilla de la Faba ■ Bacterias asociadas al decaimiento del roble ■ Control de la paratuberculosis bovina ■ Causas de mortalidad de osos pardos ■ Singularidad genética de las razas bovinas ■ La magaya de la actividad sidrera ■ Hazme visible para ser rentable ■ Aceites de pepita de manzana



SUMARIO

Tecnología Agroalimentaria - SERIDA

Número 24 · 2021

Actualidad

- 2** Las cajas nido para pájaros ayudan a controlar las plagas del manzano
Marcos Miñarro Prado
Daniel García García

Información agrícola

- 8** Buscando la sostenibilidad del cultivo de Faba Granja Asturiana a través de la mejora genética
Juan José Ferreira
- 14** Condiciones de trillado y comportamiento de la semilla de Faba Granja Asturiana en el remojo y la cocción
Ana Campa Negrillo
Juan José Ferreira
- 18** Bacterias asociadas al decaimiento del roble en Asturias
Ana J. González
Marta Ciordia

Información ganadera

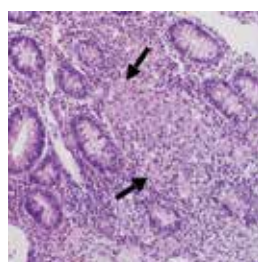
- 22** Control de la paratuberculosis bovina: nuevos métodos de diagnóstico basados en la detección de biomarcadores bovinos
Rosa Casais Goyos
Cristina Blanco Vázquez
Natalia Iglesias Besteiro
Ana Balseiro Morales
Fernando Vicente
Javier Amado Fernández
María Canive
Ramón A. Juste
Marta Alonso-Hearn
- 33** Causas de mortalidad de osos pardos necropsiados entre 1998 y 2018 en Asturias y Castilla y León
Ana Balseiro
Luis José Royo
Elena Gayo
Ramón Balsera
Olga Alarcía
Juan Francisco García Marín
- 39** Singularidad genética de las razas bovinas cantábricas
Luis J. Royo
Rocío Pelayo



2



14



22



39



52



57

61

Tecnología de los alimentos

48 | La magaya de la actividad sidrera: fuente de compuestos bioactivos de elevado interés **Ácidos triterpénicos**

Anna Picinelli Lobo
Amada Garitas-Bullón
Belén Suárez Valles

52 | Hazme visible para ser rentable

Rosa Pando Bedriñana
Belén Suárez Valles
Rosa Aznar Novella

57 | Aceites de pepita de manzana y cosmética natural

Roberto Rodríguez Madrera
Belén Suárez Valles

Actividades de transferencia

61 | Presentación del libro *El avellano en Asturias: diversidad genética local y guía para su cultivo y recuperación*

Juan José Ferrerira
Ana Campa Negrillo

62 | El Serida celebró el Día Internacional de la Mujer y la Niña en la Ciencia

María del Pilar Oro García

63 | XXVII Xornaes de les Fabes en Villaviciosa. Jornada Técnica

María del Pilar Oro García
Guillermo García González de Lena

Cartera de proyectos

65 | Nuevos proyectos de I+D+i

Catálogo de convenios

66 | Nuevos convenios, contratos, acuerdos y protocolos

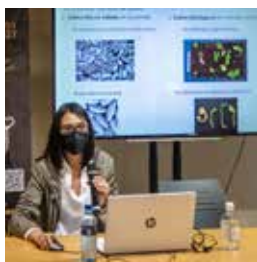
Tesis y Seminarios

68 | Tesis Doctorales

Publicaciones

72 | Libros y folletos

63



Tecnología Agroalimentaria es el boletín informativo del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), organismo público de la Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial que depende de la Dirección General de Desarrollo Rural y Agroalimentación.

Este boletín de carácter divulgativo, no venal, pretende impulsar, a través de los distintos artículos que lo integran, la aplicación de recomendaciones prácticas concretas, emanadas de los resultados de los proyectos de investigación y desarrollo en curso de los distintos campos de la producción vegetal, animal, alimentaria y forestal.

Consejo de redacción: M^a del Carmen Oliván García, Carmen Díez Monforte y M^a del Pilar Oro García

Coordinación Editorial: M^a del Pilar Oro García

Edita: Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA)

Sede Central: Ctra. AS-267, PK 19. 33300 Villaviciosa. Asturias - España

Tel.: (+34) 985 890 066. **Fax:** (+34) 985 891 854

E-mail: pilaroro@serida.org

Imprime: Gráficas Cano

D.L.: AS 2617/1995

ISSN: 1135-6030

El SERIDA no se responsabiliza del contenido de las colaboraciones externas, ni tampoco, necesariamente, comparte los criterios y opiniones de los autores ajenos a la entidad.



Las cajas nido para pájaros ayudan a controlar las plagas del manzano

MARCOS MIÑARRO PRADO. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Investigación en Fruticultura. mminarro@serida.org
DANIEL GARCÍA GARCÍA. Departamento Biología de Organismos y Sistemas. Instituto Mixto de Investigación en Biodiversidad. Universidad de Oviedo. danielgarcia@uniovi.es

En las pumaradas de sidra de Asturias habitan comunidades de aves insectívoras muy diversas que contribuyen a reducir notoriamente la incidencia de insectos plaga en el cultivo. Así, parece muy razonable gestionar las pumaradas para convertirlas en un hábitat “amigable” para las aves, por ejemplo, mediante la instalación de cajas nido. En este artículo descubrimos de qué se alimentan las aves que crían en cajas nido en pumaradas y hacemos algunas recomendaciones para que estos nidales artificiales resulten más eficaces.



Herrerillo común con larvas de gorgojo de la flor del manzano en el pico.
Foto de Marcos Miñarro®.

La instalación de cajas nido para las aves insectívoras es una herramienta efectiva para incrementar el control biológico de las plagas. Esa es la principal conclusión de nuestra última investigación sobre aves insectívoras en pumaradas de sidra (García et al., 2021). En primavera, las pumaradas se convierten en terrenos de caza para las aves insectívoras que ocupan las cajas nido justo en un momento en el que muchas plagas del manzano, como los pulgones o los gorgojos de la flor, comienzan a incrementar sus poblaciones. La elevada demanda alimenticia de los polluelos implica una alta actividad depredadora de sus parentales sobre los insectos, pero, exactamente, **¿qué es lo que cazan las aves que crían en las cajas nido de las pumaradas?**

En nuestro estudio, con 10 cajas nido en 12 pumaradas de sidra, las cajas fueron ocupadas por especies insectívoras, básicamente carbonero común (*Parus major*; 62 % de las cajas) y herrerillo común (*Cyanistes caeruleus*; 36 %). El 2 % restante fue usado por colirrojo real (*Phoenicurus phoenicurus*). En total, las aves ocuparon el 25, el 30 y el 33 % de las cajas en 2018, 2019 y 2020, respectivamente. Un dato a resaltar es que todas las pumaradas tuvieron al menos una caja con nido cada año, con un éxito de ocupación del 80 % en un caso particular.

Emparejando estas 12 pumaradas con otras equivalentes pero sin cajas, evaluamos el efecto insecticida de las aves. Para ello,



←
Figura 1.- Ejemplos de fotografías tomadas durante el estudio para identificar presas llevadas por aves adultas para alimentar a los polluelos. De izquierda a derecha y de arriba a abajo: herrerillo común con larvas del gorgojo de la flor, pulgón lanífero, pulgón verde, pulgón ceniciento, gorgojo verde, homópteros y tijereta; carbonero común con cinco orugas diferentes (una por fotografía), saltamontes, tígula, escarabajo, dos arañas (una por fotografía) y tijereta; colirrojo real macho con hormigas aladas y dos orugas (una por fotografía); y colirrojo real hembra con oruga, dos arañas (una por fotografía) y cochinilla de la humedad. Fotos de Marcos Miñarro y Antonio López®.

estimamos el ataque de las aves sobre señuelos de plastilina verde que simulaban orugas del manzano y, además, contamos el número de insectos, tanto en los manzanos alrededor de las cajas ocupadas como en árboles equivalentes en las pumaradas sin cajas. Ambos métodos demostraron un mayor control de plagas en las pumaradas con cajas nido que en las fincas sin estas.

Fotografiar las aves para ver qué comen

Para saber qué comían las tres especies de aves que criaron en las cajas, entre 2018 y 2020 seleccionamos cajas ocupadas por carbonero (15 cajas), herrerillo (14) y colirrojo (3) y fotografiamos a los adultos que llegaban con presas para los polluelos. A partir de las fotos identificamos las presas (ver ejemplos en la Figura 1). Además, estimamos la frecuencia con que eran alimentados los pollos a partir del número

de visitas de los adultos al nido. Para eso, nos colocamos más lejos de la caja nido que para la toma de fotografías, para asegurarnos de no alterar el comportamiento de los adultos debido a nuestra presencia. Por último, estimamos si los adultos cazaban en la pumarada registrando si, al salir de la caja nido tras cebar a los pollos, el adulto volaba hacia algún manzano de la plantación o si, por el contrario, el ave abandonaba la pumarada para buscar alimento en los alrededores.

El herrerillo es el gran devorador de plagas

A partir de las fotografías registramos 480 cebas y 587 presas, de las que pudimos identificar el 77,5 %. Hubo diferencias en el número de presas que cada especie de ave llevaba el nido. Así, el carbonero llevaba una sola presa en prácticamente todas las cebas (99,4 % de las observaciones), mien-

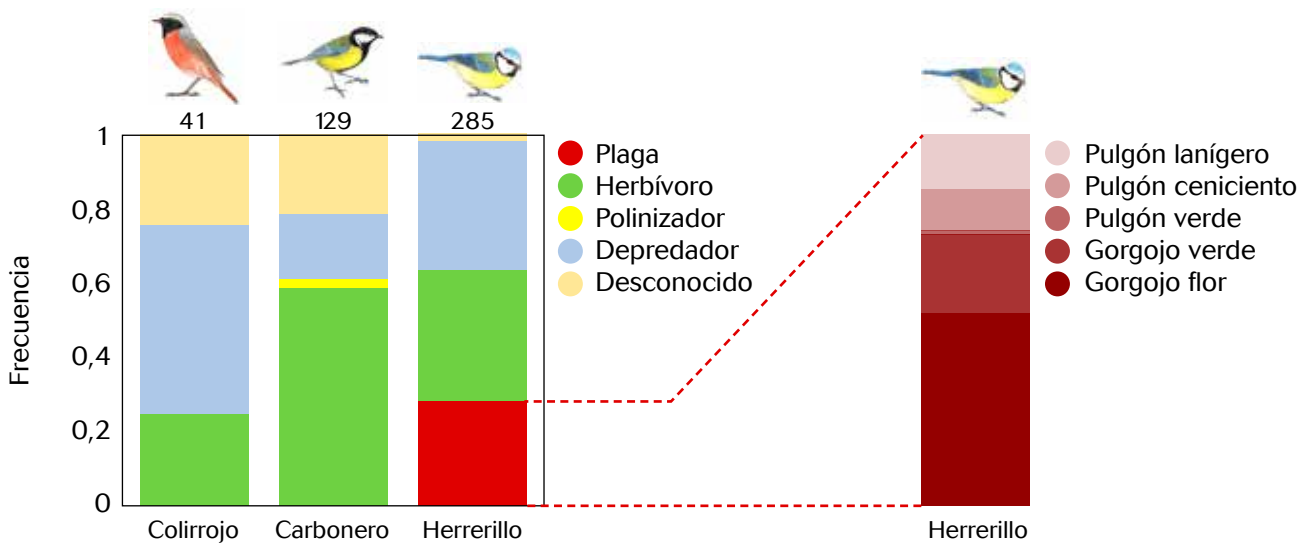


Figura 2.- Frecuencia de presas llevadas a las cajas nido por las tres especies de aves, según el tipo de presa y con detalle de las plagas del manzano. El número de presas identificadas se indica encima de cada columna. Dibujos de Daniel García®.

tras que el herrerillo aportó una (80,6%), dos (13,7%), tres (3,8%), cuatro (1,6%) y hasta cinco (0,3%) presas en cada ceba. El colirrojo real cebó con una (86,0%), dos (12,0%) o cuatro (2,0%) presas.

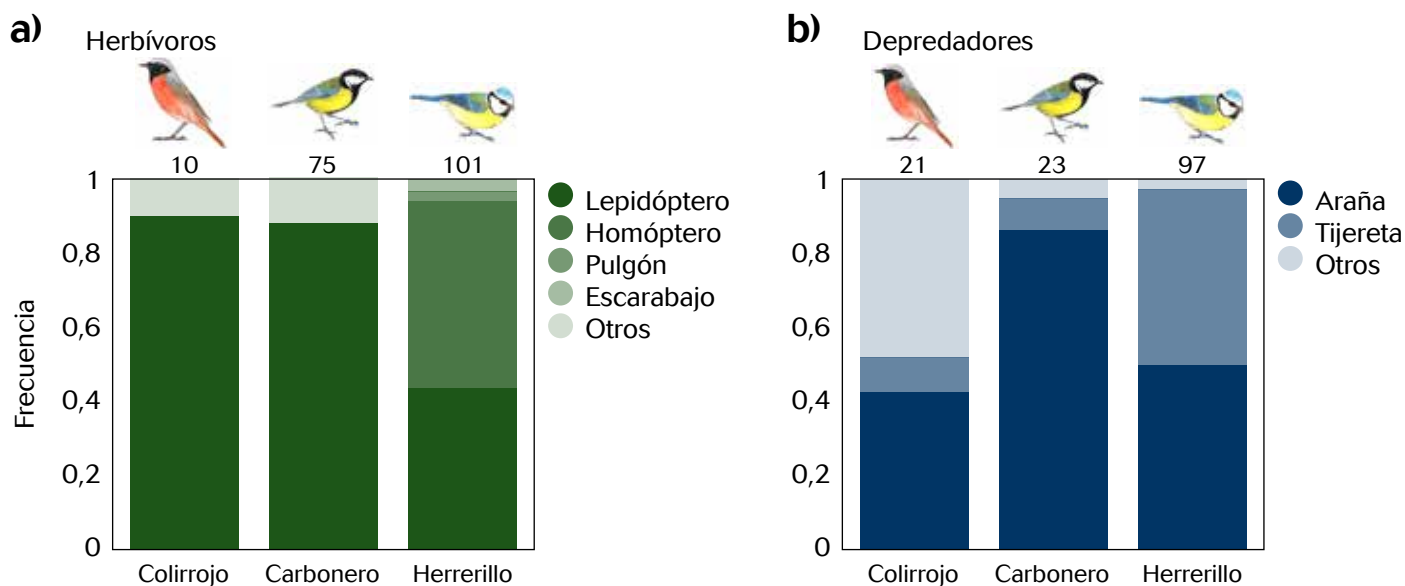
Clasificamos las presas identificadas en cinco grupos: plagas del manzano, otros herbívoros (especies que sabemos que se alimentan de plantas, aunque no necesariamente del manzano), depredadores de plagas, polinizadores y otros con alimentación desconocida o indiferente para el cultivo (por ejemplo, insectos detritívoros). Las tres especies de aves capturaron herbívoros, enemigos naturales y otros insectos con alimentación desconocida, pero **solo el herrerillo incluyó una gran proporción de plagas del manzano en la dieta de los polluelos** (28,4%) (Figura 2). De hecho, el herrerillo capturó plagas clave del manzano, como las larvas del antonomo o gorgojo de la flor (51,9% de las plagas capturadas) y las tres especies de pulgones habituales del manzano: lanígero (14,8%), ceniciento (11,1%) y verde (1,2%; Figuras 1 y 2). El herrerillo también capturó gorgojos verdes adultos (*Polydrusus formosus*; 21,0%), una plaga generalista que también se alimenta de hojas de manzano. Solo observamos una plaga (una larva del gorgojo de la flor) entre las presas del carbonero, mientras que no detectamos plagas en el caso del colirrojo.

Las tres especies de pájaro alimentaron a los pollos con herbívoros no identificados como plagas del manzano, que, de hecho, fueron el tipo de presa más frecuente para los car-

boneros (Figura 2). Entre estos herbívoros, los lepidópteros, básicamente orugas de polillas y mariposas, fueron los más capturados por carbonero y colirrojo (Figura 3A). El herrerillo también capturó bastantes orugas, pero las ninfas de homópteros (muchas identificadas como cigarras espumadoras de la familia Cercopidae) fueron también muy frecuentes. Aunque las orugas no se pudieron identificar a nivel de especie y se agruparon como herbívoros es probable que algunas de ellas fueran plagas del manzano. Considerando en conjunto las plagas y esos otros herbívoros, encontramos frecuencias similares de estos insectos en las presas de herrerillo y carbonero, pero una frecuencia menor en las presas de colirrojo (Figura 2). Las tres especies también cebaron a los pollos con artrópodos depredadores, principalmente arañas y tijeretas (Figura 3B).

El herrerillo es también el más frenético

El herrerillo mostró la mayor frecuencia de visitas al nido para cebar los pollos, con una media de 42,4 visitas por hora (illegando hasta 76!), frente a 15,5 y 17,5 para carbonero y colirrojo, respectivamente. Sin embargo, no hubo diferencias entre las especies de aves en el destino del vuelo de los adultos tras alimentar a los polluelos. El 36,5%, 36,0% y 43,8% de herrerillos, carboneros y colirrojos, respectivamente, se posaron en árboles de la pumarada tras dejar la caja nido. Hubo, no obstante, muchísima variabilidad asociada a parejas y plantaciones. Por



ejemplo, algunas parejas de carbonero siempre volaban a los manzanos mientras que otras parejas, en otras pumaradas, siempre salían a cazar fuera. Si asumimos que cuando un adulto sale hacia un manzano su próxima captura será dentro de la pumarada, podemos considerar que al menos una de cada tres presas -para las tres especies de aves- procedería de la propia plantación.

Conclusión: las aves controlan las plagas a cambio de ayuda para anidar

Nuestro muestreo fotográfico puso en evidencia fuertes diferencias en la dieta de las aves que crían en las cajas nido: los herrerillos depredaron intensamente sobre plagas del manzano, los carboneros capturaron sobre todo orugas y los colirrojos reales atacaron con frecuencia artrópodos que son enemigos naturales de las plagas. Sin embargo, la tasa de ocupación de las cajas por el colirrojo fue muy baja (2%), por lo que no es esperable un gran efecto de esta especie sobre las comunidades de insectos beneficiosos.

En resumen, el uso de cajas nido en las pumaradas podría promover simultáneamente a un depredador de plagas altamente efectivo, el herrerillo, junto a un depredador de herbívoros, el carbonero. Teniendo también en cuenta que muchos de estos herbívoros no clasificados como plagas probablemente fueron capturados en los manzanos, podemos considerar que car-

boneros y herrerillos tienen roles aditivos y complementarios en términos de beneficios para el productor de manzana.

Como hemos visto, las aves también atacaron a los artrópodos depredadores de plagas, como arañas o tijeretas, aunque la proporción de este grupo de presas entre carboneros y herrerillos fue baja. Nuestros trabajos sobre el papel de las aves en las pumaradas muestran que, incluso con cierta depredación sobre los artrópodos depredadores, el resultado global es que las aves insectívoras contribuyen a reducir el nivel de plagas, por lo que su presencia resulta siempre beneficiosa para el agricultor (García et al., 2018a, 2018b, 2020; Miñarro y García, 2018; Martínez-Sastre et al., 2020).

Por todo ello, concluimos que al instalar cajas nido en sus pumaradas los agricultores promueven la actividad de las aves insectívoras y, en consecuencia, el servicio ecosistémico de control de plagas. Así, ayudan a conservar la biodiversidad a la vez que mejoran (o, al menos, mantienen) la producción de manzana.

Recomendaciones: qué cajas nido, cómo, cuándo y dónde instalarlas

El Gobierno de Asturias aprobó en el año 2020 una subvención de la PAC para fomentar la biodiversidad en las pumaradas (BOPA nº 53, 17-III-2020). Entre otras medidas (mantener *sebes*, colocar nidales y perchas para rapaces o instalar comederos

↑
Figura 3.- Frecuencia de presas capturadas por adultos de las tres especies de aves para alimentar a los pollos diferenciando los herbívoros que no son plagas del manzano (izquierda) y los depredadores (derecha). Dibujos de Daniel García®.

→

Figura 4.-
Recomendaciones para que el uso de las cajas nido resulte más eficaz.
Fotos de Marcos Miñarro®.



para aves insectívoras), la subvención incluye la instalación de cajas nido para aves insectívoras (10 por hectárea). Sin embargo, la convocatoria no hacía especificaciones sobre cómo debían ser las cajas nido. Hemos podido comprobar que esta medida, que nos parece muy acertada y que apoyamos inquebrantablemente, no siempre se está adoptando de la mejor manera por falta de información entre los productores de manzana o los suministradores de las cajas nido. En base a nuestras experiencias y a consultas en diversas publicaciones hacemos las siguientes recomendaciones sobre las características de las cajas y sobre cómo colocarlas y mantenerlas para obtener los mejores resultados de ocupación y, en último

término, de control de plagas (Figura 4):

- Las cajas deben tener unos 15 cm de lado y una altura de 20-25 cm.
- El agujero de entrada debe ser de 28-32 mm de diámetro y situarse en el tercio superior de la caja. Agujeros mayores y posicionados más bajos favorecen la depredación de los pollos. Hemos encontrado muchas cajas ya instaladas con agujeros de unos 5 cm. Esto se podría corregir superponiendo sobre el agujero una placa con agujero del tamaño recomendado (ver ejemplo en Figura 4).

- Instalar con preferencia en otoño, para que las aves se familiaricen con su presencia antes del periodo de cría. Las cajas pueden ser usadas también por las aves como refugio en días fríos y lluviosos.
- Colocar en sitios tranquilos, alejados de zonas de paso o ruidosas.
- Situar entre 1,5 y 3 m de altura, de modo que podamos acceder a ellas fácilmente (de pie o con una escalera) para las labores de limpieza.
- Orientar el agujero de entrada preferentemente hacia el sur-sureste, protegido de lluvias y vientos predominantes.
- Colocar contra un poste o atadas al tronco o a ramas gruesa de los manzanos. También se pueden colgar de ramas gruesas mediante un alambre corto. En este caso serían menos accesibles a gatos y otros depredadores.
- Vaciar completamente el contenido y limpiar cuidadosamente todos los años en otoño-invierno, para eliminar parásitos. Para ello, la caja debe tener la posibilidad de abrirse.
- Durante el periodo de cría, no manipular la caja ni permanecer cerca del nido, para evitar que la puesta o la pollada sean abandonadas.
- Las cajas nido son fáciles de construir, pero si se decide comprarlas hay que acudir a un comercio especializado. Deben evitarse las cajas de colores vistosos y diseños llamativos, pensadas más para el adorno de jardines que para las aves.

A continuación citamos algunas páginas web con información sobre cajas nido:

<http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=4063>

<https://www.gardenbirds.es/garden-birds/>

<https://parapajaros.com/>

<https://seo.org/>

<http://diariosdeunnaturalista.blogspot.com/2013/04/consejos-sobre-cajas-nido-para-aves.html>

<https://riadenoia.es/2018/02/18/cajas-nido-las-aves-se-acerquen-ti/>

Agradecimientos

A los proyectos APCIN2016-000064-00-00 (C-IPM APITREE; MinECo/FEDER), ClaveSER (Fundación BBVA) and GRUPIN IDI/2018/000151 (Gobierno del Principado de Asturias) por la financiación, a Rodrigo Martínez, Antonio López y Cristina de Castro por su colaboración en la toma de datos y a los productores por permitirnos realizar el estudio en sus pumaradas.

Referencias bibliográficas

GARCÍA, D., MIÑARRO, M., MARTÍNEZ-SASTRE, R. (2018a). Birds as suppliers of pest control in cider apple orchards: Avian biodiversity drivers and insectivory effect. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 254: 233-243.

GARCÍA, D., MIÑARRO, M., MARTÍNEZ-SASTRE, R., PEÑA, R. (2018b). Control de plagas de manzano de sidra por aves silvestres. *Tecnología Agroalimentaria* 21: 2-9.

GARCÍA, D., MIÑARRO, M., MARTÍNEZ-SASTRE, R. (2021). Enhancing ecosystem services in apple orchards: nest boxes increase pest control by insectivorous birds. *Journal of Applied Ecology* 58:465-475.

MARTÍNEZ-SASTRE, R., MIÑARRO, M., GARCÍA, D. (2020). Animal biodiversity in cider-apple orchards: simultaneous environmental drivers and effects on insectivory and pollination. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 295: 106918.

MIÑARRO, M., GARCÍA, D. (2018). Unravelling pest infestation and biological control in low-input orchards: the case of apple blossom weevil. *Journal of Pest Science* 91 (3): 1047-1061. ■

Buscando la sostenibilidad del cultivo de Faba Granja Asturiana a través de la mejora genética

JUAN JOSÉ FERREIRA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. jjferreira@serida.org

El año 2020 fue declarado Año Internacional de la Sanidad Vegetal. Con este motivo, en este trabajo se revisan los programas de mejora genética en Faba Granja Asturiana desarrollados en el SERIDA en los últimos 30 años enfocados hacia la protección de este tipo varietal frente a enfermedades presentes en los cultivos locales.

Introducción

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO; www.fao.org) declaró 2020 **Año Internacional de la Sanidad Vegetal** para concienciar sobre la importancia de la protección de la salud de las plantas. Según estimaciones de este organismo, cada año se pierden a nivel mundial hasta un 40 por ciento de los cultivos alimenticios a causa de plagas y enfermedades de las plantas.

Por otra parte la UE, en respuesta a la crisis climática y en línea con los 17 Objetivos para el Desarrollo Sostenible propuestos por la ONU, ha puesto en marcha el **Pacto Verde Europeo** con objeto de dotar a la UE de una agenda para una transición hacia una economía sostenible y medioambientalmente neutra en emisión de gases de efecto invernadero. Este Pacto Verde incluye entre sus ámbitos de actuación, la temática '**de la granja a la mesa**', con la que se busca la transición hacia una agricultura sostenible con menor dependencia de plaguicidas y fertilizantes de síntesis, permitiendo la preservación de la biodiversidad. En este contexto, las resistencias genéticas a enfermedades proporcionan una enorme ventaja.

Las variedades resistentes son aquellas en las que, en presencia del patógeno y un ambiente favorable, no desarrollan la enfermedad y en consecuencia se limitan los daños/pérdidas debidas a éstas, además de minimizar los costes por la aplicación de plaguicidas y sus efectos colaterales sobre el medioambiente.

El tipo varietal **Faba Granja Asturiana** es un grupo de genotipos que se caracterizan por presentar unas semillas blancas, oblongas (mas larga que ancha, y la relación Longitud/Ancho >2) y muy grande (peso alrededor 100 g/100 semillas con una humedad del 12-14 %). Algunas variedades locales con características similares y denominadas 'de la Granja' fueron recolectados en Asturias en la prospección realizada por Puerta Romero (1961). No obstante, los trabajos sobre Faba Granja Asturiana arrancan en el SERIDA a mediados de los años 80 del siglo XX. En aquel momento, se buscaba promover la modernización del cultivo en aspectos tales como la transición de cultivo asociado con maíz a monocultivo, el control de enfermedades y plagas, la selección y tratamiento de la semilla de siembra, y la diferenciación de las producciones locales. Para esta modernización del cultivo resulta-

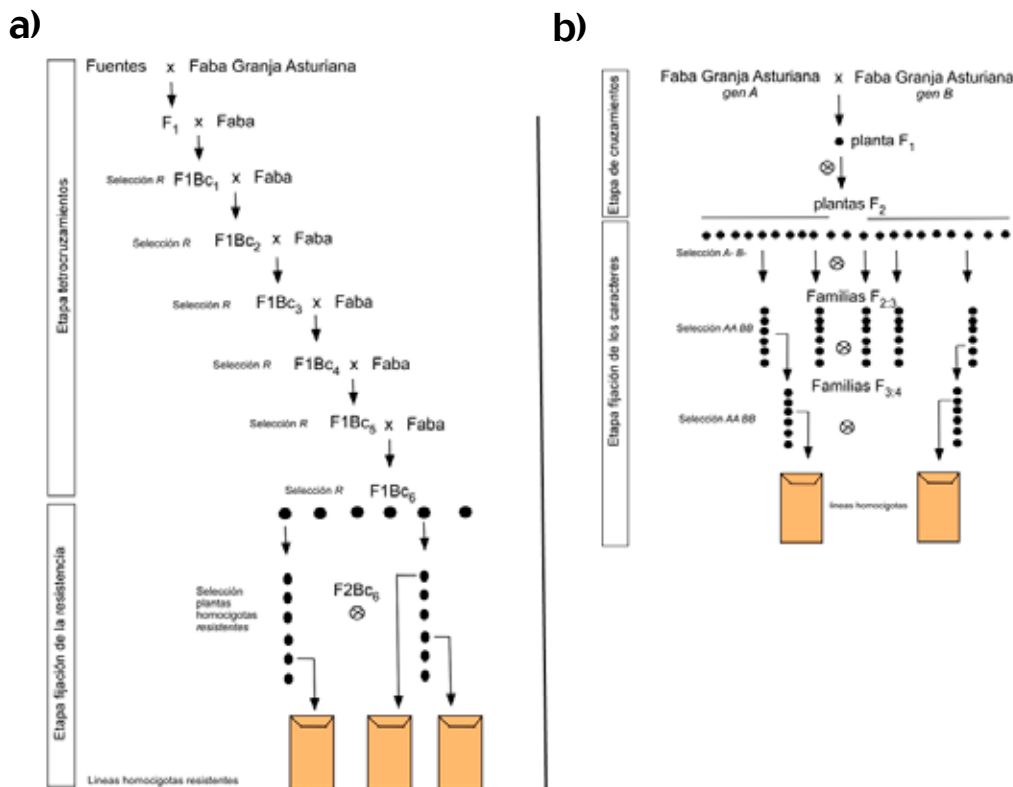


Figura 1.- a) Esquema mostrando el desarrollo de un programa de retrocruzamientos clásico para la incorporación de un gen de resistencia en Faba Granja Asturiana. En cada generación (F1Bcn) se selecciona las plantas resistentes para contribuir al siguiente retrocruzamiento C=(Selección R). b) Esquema mostrando el desarrollo de un programa de genealógico para el agrupamiento de los genes A y B en un genotipo a partir de un cruzamiento sencillo.

ba y resulta relevante la disponibilidad de semilla de siembra con calidad sanitaria y varietal, dado que la semilla es portadora de los caracteres (genes) que definen la variedad y además puede ser trasmisora de enfermedades. En este trabajo se resumen los principales logros alcanzados en los últimos treinta años de trabajo en selección y mejora genética del tipo Faba Granja Asturiana como vía para contribuir a la sostenibilidad del cultivo, minimizando la incidencia de enfermedades presentes en los cultivos locales y la aplicación de productos fitosanitarios.

Mejora genética en Faba Granja Asturiana

La mejora genética busca la obtención de nuevas variedades portadoras de características que supongan ventajas frente a las previamente existentes. La elección del método de mejora depende, entre otras cosas, de la especie y de los tipos de reproducción. En el caso de la judía, se trata de una especie esencialmente autógama en la que la polinización tiene lugar dentro de cada flor sin intercambio de polen con otras flores. Esta autofecundación es favorecida

por la morfología de la flor en la que la quilla envuelve los estambres y el estilo, favoreciendo el contacto directo entre las anteras y el estigma.

En mejora genética clásica, bien se selecciona y usa la variación existente (p.ej. dentro de colecciones de germoplasma) o bien se genera variación a través de cruzamientos para ser luego seleccionada. Los dos enfoques fueron usados en la mejora de Faba Granja Asturiana, seleccionando dentro de la diversidad local cultivada y generando variación por cruzamientos manuales. Así, para la incorporación de resistencias genéticas en Faba Granja Asturiana se usó el **método de retrocruzamientos** (Cubero 2003). Este método consiste en cruzar el parental recurrente (en este caso Faba Granja Asturiana) por la fuente de resistencia (donante) y los descendientes de este cruzamiento (F1) se retrocruzan con el parental recurrente. A partir de este primer retrocruzamiento se desarrollan varias generaciones de retrocruzamientos seleccionando en cada una de ellas los individuos portadores de la resistencia (Fig. 1a). De este modo, y después de 6 generaciones de retrocruzamientos, se obtiene unas plantas idénticas al parental

recurrente pero portadoras de la resistencia que, tras unas generaciones de autofecundación y selección, es fijada. Este tipo de programas tiene una duración media de 4 años si se desarrollan dos generaciones por año. Una vez obtenidas diferentes líneas del tipo Faba Granja Asturiana con diferentes genes de resistencia, éstas pueden ser agrupadas en una variedad mediante cruzamientos sencillos, selección de plantas y autofecundación de sus descendientes en los que se conoce como **método genealógico** (Cubero 2003, Fig. 1b).

Programas de mejora desarrollados dentro del tipo Faba Granja Asturiana

Se toma como fecha de inicio de los trabajos de mejora en Faba Granja Asturiana 1989. En este año se publica un trabajo donde se describen los resultados de una caracterización de cinco poblaciones seleccionadas entre un juego de 74 muestras recolectadas en Asturias: V090, V095, V100, V105, V136 y V143 (Fueyo y Goicoechea, 1989). Este primer trabajo sentó las bases para la solicitud de registro en la lista española de variedades comerciales y protegidas de la variedad Andecha (V143) (Nº registro 19890057, renovado BOE 189 10 julio 2020) y la descripción varietal incluida en el Reglamento de la denominación específica Faba Asturiana (BOE 170 del 17-7-1990; actual IGP Faba Asturiana). A partir de esta

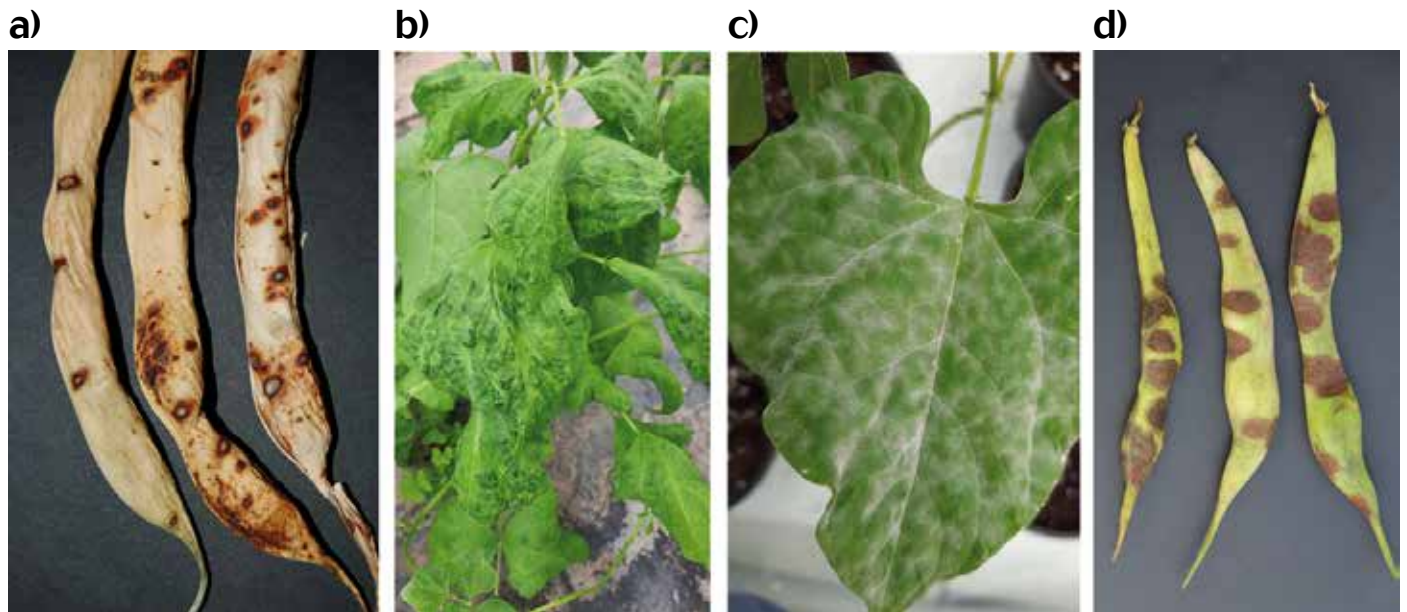
fecha, se desarrollan una serie de programas de mejora genética que se resumen en la Figura 2 y que seguidamente se detallan.

En 1991 se pone en marcha la Colección de Semillas con la instalación de una cámara de frío para preservar, conocer y utilizar la diversidad genética de las judías tradicionalmente cultivadas en Asturias. Las primeras entradas que se incorporaron a esta colección fueron las cinco poblaciones incluidas en el trabajo de Fueyo y Goicoechea (1989) y a partir de aquí se amplió la colección como resultado de nuevas prospecciones o intercambios con CNRF-INIA hasta alcanzar un total de 411 entradas de judía recolectadas en Asturias y regiones limítrofes. En aquellos momentos se priorizaron tres problemas presentes en los cultivos locales que ocasionaban pérdidas significativas y afectaban a su rendimiento (ver Figura 3):

- El manchado de la semilla, en gran medida causado por una enfermedad conocida como antracnosis, y que reduce el valor comercial de la cosecha (Figura 3a).
- La susceptibilidad a dos potyvirus, virus de mosaico común (BCMV) y virus del mosaico necrótico de la judía (BCMNV), virus que se transmiten por semilla y que producen mosaicos, abullonamiento en las hojas junto con un debilitamiento general de la planta (Figura 3b).

→ **Figura 2.-** Programas de mejora genética desarrollados en el SERIDA desde 1989, principales genes manejados y variedades comerciales obtenidas. La estrella indica las últimas líneas obtenidas y potenciales nuevas variedades.





- Los gastos debidos a la necesidad de tutorar el cultivo (ej. tutores, tutorados, horas de trabajo).

Los tres problemas señalados tienen difícil solución desde un punto de vista fitotécnico por lo que se apostó por el desarrollo de nuevas variedades a través de mejora genética clásica.

El primer programa de mejora puesto en marcha pretendía incorporar en la variedad Andecha, mediante retrocruzamiento, la resistencia genética a antracnosis (**Programa resistencia antracnosis**). Los resultados de este programa fueron la obtención de 4 líneas resistentes a antracnosis cuya resistencia deriva de cuatro fuentes con diferentes perfiles de resistencia a este hongo: A1258, A1231, A1220 y A1183. Paralelamente, en 1993 se inicia otro programa de mejora (**Programa hábito de crecimiento**) con el fin de modificar la arquitectura de la planta siguiendo el método genealógico. Uno de los resultados de este programa fue la obtención la variedad Xana, variedad con planta de crecimiento determinado (tallo principal terminado en inflorescencia). Esta variedad fue incluida en la lista de variedades comerciales y protegidas española en 1999 (BOE 106 del 4/5/99; renovado en BOE, N°113 11/05/07). Posteriormente, la resistencia a antracnosis fue transferida a la variedad Xana desde las líneas A1220 y A1183 mediante el método genealógico a partir de cruzamientos sencillos, y se obtu-

vieron las líneas de crecimiento determinado X1319 y X1358, portadoras de genes de resistencia diferentes (**Programa combinación de resistencias**). Estas dos líneas y la variedad Xana presentan entrenudos largos dando lugar a unas plantas con facilidad para encamar en las fases finales del cultivo.

En 1996, se pone en marcha otro programa de mejora para la introducción de resistencia a potyvirus en la variedad Andecha (**Programa de resistencia a potyvirus**). Los resultados de este programa fueron tres líneas: A2418, con nombre comercial Sinara (BOE, N°113 11/05/07), A1878 y A2648. Después de varios cruzamientos sencillos y selección genealógica, la resistencia a antracnosis y potyvirus fueron agrupadas en la variedad de crecimiento indeterminado Maximina (**Programa combinación resistencia y hábitos**) y en la variedad de crecimiento determinado Maruxina, ambas registradas en la lista española de variedades comerciales y protegidas (BOE 122 del 19/05/2010).

Entre los años 2008 a 2010 se detectan severos ataques de oidio en los cultivos locales incluyendo las variedades Maximina y Maruxina (Figura 3c). En el año 2010 se inicia un programa de mejora para incorporar resistencia a este hongo en Faba Granja (**Programa de resistencia a oidio**) y paralelamente se describen los primeros genes de resistencia completa a este patógeno (Trabanco et al 2012). Por razones de

↑
Figura 3.- Síntomas de antracnosis a) y mancha angular sobre vainas d). Síntomas de BCMV b) y oidio sobre hojas c).





Variedad	Descripción
<p>Andecha</p> 	<p>Variedad comercial de judía tipo Faba Granja Asturiana (BOE Num.281 22 de noviembre 2004) seleccionada por su calidad y buen comportamiento agronómico a partir de 74 poblaciones locales. Esta variedad presenta una planta con hábito de crecimiento indeterminado trepador y un ciclo de cultivo entre 140-160 días. Fue la primera variedad registrada dentro de este tipo varietal y es muy valorada por sus propiedades organolépticas pero resulta susceptible a antracnosis, oidio y los <i>virus del mosaico común</i> y <i>necrótico de la judía</i>.</p>
<p>Xana</p> 	<p>Variedad comercial de judía tipo Faba Granja Asturiana (BOE Num. 113 11-de mayo 2007) que presenta una planta vigorosa, con hábito de crecimiento determinado, entrenudos largos y un ciclo de cultivo entre 120-130 días. Esta variedad ha sido desarrollada siguiendo el método genealógico a partir del cruzamiento entre la entrada V203, y la variedad comercial Andecha. Es susceptible a antracnosis, oidio y los <i>virus del mosaico común</i> y <i>necrótico de la judía</i>.</p>
<p>Maximina</p> 	<p>Variedad comercial de judía tipo Faba Granja Asturiana (BOE Num. 122 del 19 de mayo 2010) que combina resistencia a las razas locales de antracnosis, resistencia a los <i>virus del mosaico común de la judía</i>, moderados niveles de resistencia a oidio. Maximina presenta una planta vigorosa, con hábito de crecimiento indeterminado trepador y un ciclo de cultivo entre 130-140 días. Esta variedad ha sido desarrollada mediante métodos clásicos de mejora genética estando entre sus progenitores la variedad Andecha. Es susceptible a aislamientos locales de mancha angular.</p>
<p>Maruxina</p> 	<p>Variedad comercial de judía tipo Faba Granja Asturiana (BOE Num. 122 del 19 de mayo 2010) que combina resistencia a las razas locales de antracnosis, resistencia a <i>virus del mosaico común de la judía</i>, moderados niveles de resistencia a oidio y moho blanco. Maruxina presenta una planta vigorosa, con tallo muy grueso, hábito de crecimiento determinado y un ciclo de cultivo entre 105-115 días. Esta variedad ha sido desarrollada mediante métodos clásicos de mejora genética estando entre sus progenitores la variedad comercial Xana. Es susceptible a aislamientos locales de mancha angular.</p>



Tabla 1.- Descripción de las variedades comercializadas con semilla dentro del Tipo Faba Granja Asturiana desarrolladas en el SERIDA por mejorar genética clásica.

manejo de las plantas en invernadero, esta resistencia se incorpora primero en la variedad Maruxina de crecimiento determinado mediante un programa de retrocruzamientos y se obtiene la línea X4562. Posteriormente, se trasfiere a la variedad Maximina esta resistencia mediante un cruzamiento sencillo y se obtiene la línea de crecimiento indeterminado A4804. Estas dos nuevas líneas disponen de resistencia a las razas locales de antracnosis, potyvirus y oidio, además de presentar una semilla con las características que definen el tipo Faba Granja Asturiana.

Liberación de variedades

Después del desarrollo de un programa de mejora y el contraste de las variedades

obtenidas en ensayos de campo, la consiguiente etapa es su liberación, es decir, su puesta a disposición de los productores interesados. Previamente, resulta necesario su solicitud de inscripción las listas de variedades comerciales y protegidas (Oficina Española de Variedades Vegetales) y superar una evaluación técnica en la que se acredita que la variedad propuesta es distinta de las ya registradas, homogénea, estable y con un valor agronómico significativo. Paralelamente, el SERIDA realiza una multiplicación controlada de estas nuevas variedades en la que se evalúa la presencia de patógenos junto con la identidad varietal para producir un lote de semilla de alta calidad. Una vez registrada y multiplicada la nueva variedad, se pone a disposición las empresas de semillas autorizadas para

lleven a cabo su multiplicación, comercialización y distribución bajo determinados criterios de calidad (proceso de licitación).

Como resultado de los programas de mejora genética anteriormente descritos se han obtenido 22 líneas de tipo Faba Granja Asturiana y registrado un total de 13 variedades de las que seis fueron liberadas con los nombres comerciales de; Andecha (2000), Cimera (2003), Xana (2003), Sinara (2007), Maximina (2011) y Maruxina (2014). Actualmente, se comercializan las variedades Andecha, Xana, Maximina y Maruxina cuyas características se describen en la Tabla 1. Todas estas líneas, junto con otras también obtenidas en estos programas de mejora, se mantienen en la Colección de Semillas del SERIDA como reservorio para producción de semilla de calidad o el desarrollo de nuevas variedades que superen los nuevos desafíos del cultivo.

Perspectivas de futuro

Entre los desafíos a los que se enfrenta el cultivo del tipo Faba Granja Asturiana está su adaptación a los efectos del **cambio climático** en el norte de España que modifican las condiciones de cultivo en cuanto a la distribución de lluvias a lo largo del verano y episodios con elevadas temperaturas. Algunos de estos estreses podrán ser evitados con estrategias agronómicas como la modificación de la fecha de siembra, la implantación de sistemas de riego, el acolchado o el uso de variedades no trepadoras, mas tolerantes a la sequía. Sin embargo, estos estreses no sólo afectan al desarrollo y crecimiento de las plantas sino también a una mayor incidencia de determinadas plagas (p.e. el chinche verde) o enfermedades poco presentes en los cultivos locales hasta el momento. En el año 2016 se detecta la presencia de la enfermedad conocida como mancha angular en los cultivos locales de Faba Granja Asturiana, causada por el hongo *Pseudocercospora griseola* (Sacc.) Ferr (Landeras et al 2017). Este hongo es capaz de defoliar la planta y producir manchas en vainas (Figura 3d) y semillas, ocasionando pérdidas significativas. Afortunadamente, se ha descrito resistencia genética (**Programa de resistencia a mancha angular**) frente a este patógeno, de modo que se ha iniciado

un nuevo programa de mejora genética para la incorporación de esta resistencia en Faba Granja Asturiana (X4562) y avanzar hacia una mayor sostenibilidad del cultivo.

Agradecimientos

El desarrollo de estos programas de mejora ha sido posible, en parte, gracias a diferentes proyectos de investigación financiados por el Gobierno de España (incluyendo el proyecto en desarrollo AGL2017-87050R) y el Gobierno del Principado de Asturias.

Referencias

- CUBERO JI. 2003. Introducción a la mejorar genética vegetal. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 567 pp.
- FUEYO MA, P GOICOECHEA. 1989. La Faba Granja Asturiana (*Phaseolus vulgaris* L. vr. Granja). Valoración y características de la calidad. Serie Técnica 1/89. IEPA. Principado de Asturias. 32 pp.
- LANDERAS E, E TRAPIELLO; M BRAÑA, AJ GONZÁLEZ. 2017. Occurrence of angular leaf spot caused by *Pseudocercospora griseola* f. *griseola* in *Phaseolus vulgaris* L. in Asturias. Spanish J of Agricultural Research 15 (3).
- PUERTA ROMERO J. 1961. Variedades de judía cultivadas en España. Monografías N 11. Ministerio Agricultura. Madrid. 798 pp.
- TRABANCO N, E PÉREZ-VEGA, A CAMPA, D RUBIALES, JJ FERREIRA. 2012. Genetic resistance to powdery mildew in common bean. Euphytica 186:875-882. ■

Condiciones de trillado y comportamiento de la semilla de Faba Granja Asturiana en el remojo y la cocción

ANA CAMPA NEGRILLO, Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. acampa@serida.org
 JUAN JOSÉ FERREIRA, Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. jjferreira@serida.org

En un trabajo previo se puso de manifiesto la relación entre el contenido de humedad de la semilla de Faba Granja Asturiana y los daños causados durante el trillado, que tenían implicaciones en la integridad física de la semilla y en su germinación. En este trabajo, se analiza si un mal manejo de la humedad durante el trillado puede tener también implicaciones en el comportamiento de la semilla durante el remojo y la cocción. Así mismo, dado que el porcentaje de semillas dañadas es un parámetro determinante en la calidad final de un lote, y no siempre es fácil de apreciar a simple vista, se propone un test rápido y accesible para estimar este porcentaje de daños.

Descripción del estudio

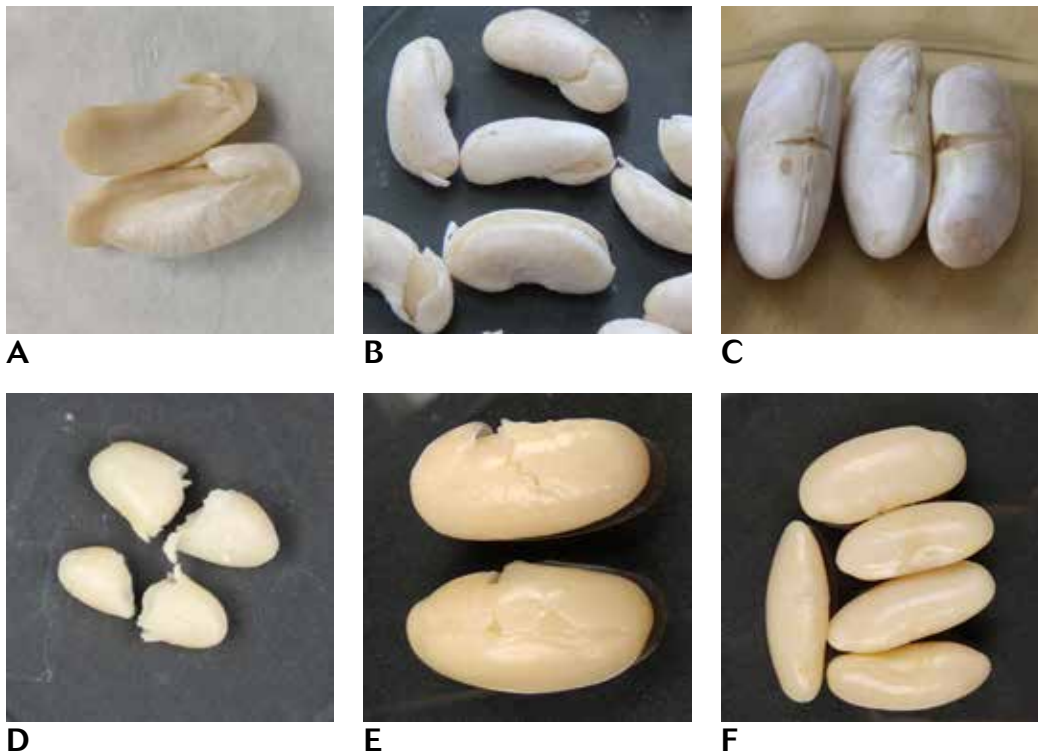
Se utilizaron dos variedades de Faba Granja Asturiana, Maximina, de hábito de crecimiento indeterminado trepador, y Maruxina, de hábito de crecimiento determinado. Las dos variedades se cultivaron en las instalaciones del SERIDA durante el verano 2019 bajo condiciones de producción ecológica. Las vainas recolectadas se secaron en invernadero durante varias semanas.

Para cada variedad se consideraron dos variables según describe Campa et al. 2019: humedad de la semilla (lote húmedo-lote seco) y tipo de desgranado (manual-mecánico). Así, para cada variedad se obtuvieron 4 tipos de lotes de semilla: húmedo-manual, húmedo-mecánico, seco-manual y seco-mecánico. Se investigó el efecto de estos tratamientos después del remojo de las semillas y después de la cocción. Para cada lote, se pusieron en remojo 20 semillas enteras (sin daños aparentes) en agua destilada, durante 16 horas y a tempera-

tura ambiente. Se realizaron un total de 12 repeticiones para cada lote (240 semillas). Tras el remojo se seleccionaron las semillas íntegras, esto es, sin daños aparentes ni en la piel ni en el albumen, y se cocieron durante 35 minutos a 90-95°C en agua destilada. Para cada lote se cocieron en total entre 120 y 76 semillas en 6 repeticiones.

Tanto después del remojo como de la cocción se diferenciaron 3 tipos de daños relacionados con la integridad de la semilla: rotura de la piel y del albumen (Figura 1 A y D), rotura de la piel (Figura 1 B y E), y rotura de la piel a la altura del ombligo (Figura 1 C y F). Estos daños se agruparon en dos tipos de parámetros: proporción de daño tras el remojo y proporción de daño tras la cocción.

Para los parámetros proporción de daño tras el remojo y proporción de daño tras la cocción se investigó la existencia de diferencias estadísticamente significativas mediante un análisis de varianza utilizando la plataforma



←
Figura 1.- Tipos de daños en la semilla tras el remojo (A, B, C) y la cocción (D, E, F): A y D) rotura de la piel y el albumen, B y E) rotura de la piel, C y F) rotura de la piel a la altura del ombligo de la semilla.

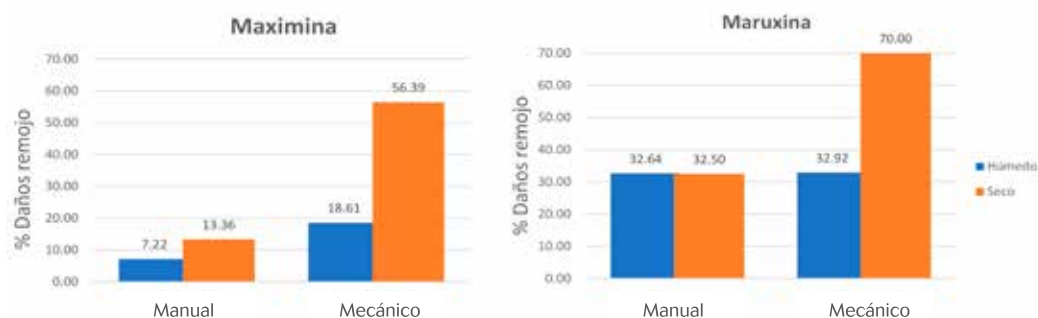
R (R Core Team, 2019), y considerando las variables variedad, contenido en humedad y tipo de desgranado, así como la posible interacción entre ellas.

Resultados

La humedad de los lotes se ajustó mediante secado en estufa o hidratación en cámara húmeda. Los lotes secos presentaron una humedad promedio del 11,2% y los lotes húmedos del 14,9%. Tras el proceso de desgranado, manual y mecánico, se seleccionaron aquellas semillas que no presentaban daños aparentes en la piel. Una vez seleccionados los lotes, se procedió a estudiar su comportamiento en el remojo.

La Figura 2 muestra en un histograma de barras el porcentaje de daños observado tras el remojo. Los resultados se presentan para cada variedad y separando el tipo de desgranado, manual-mecánico, y la humedad del lote, húmedo-seco. Se observa que el mayor porcentaje de daños está presente en los lotes secos desgranados mecánicamente. No se observan grandes diferencias entre los lotes desgranados manualmente, independientemente de cuál sea su humedad. En general, se observaron valores más altos de daños en la variedad Maruxina que Maximina.

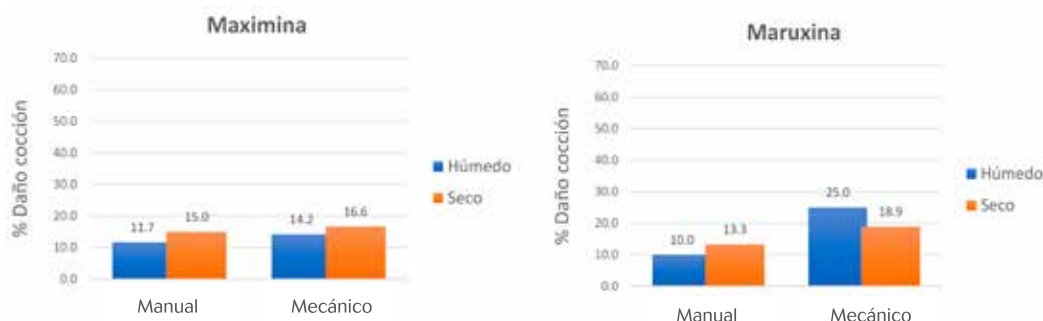
Para realizar las pruebas de cocción se seleccionaron visualmente aquellas semillas



←
Figura 2.- Histograma mostrando el porcentaje de daño observado tras el remojo en las variedades de Faba Granja Asturiana Maximina y Maruxina.



Figura 3.- Histograma mostrando el porcentaje de daño observado tras la cocción en las variedades de Faba Granja Asturiana Maximina y Maruxina.



que no presentaban ningún tipo de daño tras el remojo. La Figura 3 muestra en un histograma de barras el porcentaje de daño observado tras la cocción. En general, se observaron porcentajes de daños bajos. No se observaron grandes diferencias para la variedad Maximina, independientemente de que el lote se desgrane a mano o mecánicamente o esté húmedo o seco. La variedad Maruxina presentó más daños en los lotes trillados mecánicamente, y el porcentaje de estos daños fue mayor en el lote húmedo que en el seco.

La Tabla 1 muestra los resultados del análisis de varianza. En cuanto al porcentaje de daños tras el remojo, se observaron diferencias significativas en función de la variedad, el contenido en humedad y el tipo de desgranado. En las Figura 2 se observa que Maruxina, en general, presentó porcentajes de daños más elevados que Maximina, lo que sugiere que puede ser una variedad más sensible a los problemas de calidad y explicaría las diferencias significativas

observadas en función de variedad. Las diferencias según el contenido en humedad se deben a que los lotes secos presentaron mayor porcentaje de daños tras el remojo que los lotes húmedos. Las diferencias observadas según el tipo de desgranado se deben a que los mayores porcentajes de daños se observan en los lotes desgranados mecánicamente, lo cual es esperable ya que el proceso mecánico es mucho más agresivo que un proceso manual.

En lo que respecta al porcentaje de daños tras la cocción, los resultados de la Tabla 1 no mostraron diferencias significativas para ninguna de las fuentes de variación analizadas. Es decir, ni la variedad, ni la humedad del lote, ni el tipo de desgranado influyen significativamente en el porcentaje de daños tras la cocción. Este resultado se explica porque las semillas que se cocieron fueron semillas enteras sin ningún tipo de daño ya que pasaron dos procesos de selección, uno tras el desgranado y otro tras el remojo.



Tabla 1.- Resultado del análisis de varianza. ns, diferencias no significativas; *, diferencias significativas ($p < 0,01$); ***, diferencias altamente significativas ($p < 0,001$).

Fuentes de variación	% Daño Remojo	% Daño Cocción
Variedad (Maximina-Maruxina)	82,65 ***	1,59 ns
Humedad (húmedo-seco)	82,87 ***	0,03 ns
Desgranado (manual-mecánico)	167,85 ***	1,39 ns
Variedad * Humedad	7,67 ns	1,18 ns
Variedad * Desgranado	31,30 *	1,07 ns
Humedad * Desgranado	39,90 ***	0,56 ns
Variedad * Humedad * Desgranado	0,59 ns	0,77 ns

Test hipoclorito para estimar de la integridad de la semilla

Las semillas no enteras son un defecto en la valoración de la calidad final de Faba Granja Asturiana. La determinación del porcentaje de semillas rotas tras el remojo es un parámetro de gran utilidad para determinar la calidad de un lote de semillas. Entre las causas que dan lugar a esta rotura está el trillado de semillas que presentan una humedad baja. Las roturas más evidentes suelen seleccionarse posteriormente al trillado, pero algunas semillas presentan pequeñas roturas en la piel y pueden pasar desapercibidas. Por otro lado, cuando no se conoce el manejo realizado en un determinado lote de semilla, resulta muy importante predecir cuál será su comportamiento tras el remojo. Para ello, se ha testado un método rápido y económico que permite evaluar el porcentaje de roturas o daños físicos que puede presentar un lote de semillas sin necesidad de recurrir al remojo, que es un proceso que requiere de varias horas. Este test (test del hipoclorito), consiste en sumergir un lote de 100 semillas en una solución de lejía al 4 % en agua destilada (4 ml lejía por cada 96 ml agua destilada) durante 15 minutos. Transcurrido este tiempo se observa la integridad de las semillas (Figura 4), diferenciándose dos tipos de comportamientos:

- Semillas con la piel o tegumento entero o con ligeros arrugamientos debido a la rehidratación (Figura 4A). Serían semillas que no van a presentar problemas en el remojo.
- Semillas con la piel o tegumento roto, agrietado, resquebrajado y desprendido del albumen (Figura 4B). Este tipo de comportamiento se relaciona con problemas de integridad durante el remojo.

Este test puede ser de utilidad en la toma de decisiones durante la labor de trillado (estimación del porcentaje de semillas rotas admisible) o bien para la valoración de lotes de semilla cuya trazabilidad en la tarea de trillado no sea conocida.

Conclusiones

Los resultados presentados en este trabajo indican que los daños producidos en la



A



B

semilla de Faba Granja Asturiana como consecuencia de un manejo inadecuado del contenido de humedad durante el proceso de trillado afectan también al comportamiento de la semilla en el remojo previo a la cocción, aunque estos pequeños defectos en la piel de la semilla seca pueden pasar desapercibidos en una inspección visual. La eliminación de las semillas deterioradas tras el proceso de remojo permite minimizar la aparición de semillas no íntegras tras la cocción.

Es posible estimar de una manera sencilla el porcentaje de semillas con daños físicos que puede presentar un lote de semilla tras el remojo utilizando el test del hipoclorito. Es el propio productor o técnico el que debe decidir qué porcentaje de daños está dispuesto a asumir, pero daños superiores al 5-10% sugerirían pérdidas importantes de calidad asociadas a un mal manejo del lote durante el trillado.

Referencias

CAMPA A, FERREIRA JJ. 2019. ¿Influye el contenido de humedad de la semilla de Faba Asturiana en su calidad? *Tecnología Agroalimentaria*, N° 22: 8-10.

R CORE TEAM 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto AGL2017-87050R. Los autores agradecen el apoyo Marcos Bueno, José Ángel Poladura, Fernando Díaz así como del personal de campo del SERIDA. ■

Figura 4.- A) Semillas sin daños físicos tras el test del hipoclorito. B) Semillas dañadas, con la piel rota, tras el test del hipoclorito.



Bacterias asociadas al decaimiento del roble en Asturias

ANA J. GONZÁLEZ. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Patología Vegetal. anagf@serida.org
MARTA CIORDIA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa Forestal. mciordia@serida.org

Se ha identificado en Asturias la presencia de las bacterias *Brenneria goodwinii* y *Gibbsiella quercinecans* en roble (*Quercus robur* L.) que han sido asociadas, entre otros factores, al decaimiento de esta frondosa.

¿Qué es el Decaimiento del Roble?

Es una enfermedad que afecta a diversas especies de árboles del género *Quercus* spp.

La regresión y decaimiento del roble común (*Q. robur* L.) y del roble albar [*Q. petraea* (Matt.) Liebl.] ya se referenciaba desde finales del siglo pasado en el Reino Unido y la Europa continental. Según sea el efecto de la enfermedad en el árbol (Bakhshi Ganje et al 2019), se han descrito dos tipos de Decaimiento del Roble:

- si es lento, se denomina Decaimiento Crónico del Roble, conocido por sus siglas en inglés COD (*Chronic Oak Decline*) y,
- si es rápido, Decaimiento Agudo del Roble, o AOD por sus siglas en inglés (*Acute Oak Decline*).

AOD se diagnosticó por primera vez en Reino Unido a finales de los años 80 y actualmente esta enfermedad emergente tiene una alta y grave incidencia en los robles de Reino Unido. Se han descrito brotes de esta enfermedad en otros países, como Irán, o incluso España, donde se han observado

diferentes grados de decaimiento en robles en Galicia y Asturias.

Síntomas externos del Decaimiento del Roble

Los robles afectados muestran decaimiento, defoliación, ramas puntisecas y, lesiones ovales y grietas verticales exclusivamente en la corteza del árbol. Resultan llamativos los exudados de color oscuro. Generalmente, pueden observarse también galerías de larvas con agujeros de salida en forma de "D" de escarabajos adultos de *Agrilus biguttatus* (Barrenador de roble de dos puntos).

¿A qué especies de roble afecta?

La enfermedad ataca, principalmente, a los árboles del roble común o roble carbayo (*Q. robur*) y, en menor medida, a los de roble albar (*Q. petraea*). AOD, o síntomas similares, también se han descrito en otras especies del género *Quercus* (*Q. ilex*, *Q. pirenaica*, *Q. cerris*, *Q. castaneifolia* y *Q. macranthera*).

¿Qué organismos están implicados?

Esta enfermedad parece estar asociada a una combinación de factores abióticos y



bióticos, incluyendo la sequía como consecuencia del impacto del cambio climático. Entre los agentes bióticos se incluye un complejo polimicrobiano, en el que están presentes principalmente dos bacterias patógenas *Brenneria goodwinii* y *Gibbsiella quercinecans*, además de *Rahnella* o *Lonsdalea*; así como hongos y oomicetos, como, por ejemplo, *Phytophthora*, *Daldinia* o *Biscogniauxia*. Algunos insectos, como el escarabajo *Agilus biguttatus*, plaga que causa importantes daños a los robles y muy asociada a AOD en Reino Unido, también están implicados (Denman et al, 2012, 2014, 2016).

Situación en Asturias

En junio de 2017 se observaron daños en un roble común, o carbayo, (*Q. robur*) del concejo de Vegadeo que consistían en un chancro con grietas en la corteza y producción de un exudado oscuro (Figura 1).

Los síntomas eran coincidentes con infección bacteriana, por lo que se analizó la muestra para determinar la etiología.

Se aislaron dos especies de enterobacterias muy próximas entre sí, ya que en las pruebas bioquímicas realizadas resultaron ser ambas gram negativas y fermentativas, positivas en las pruebas de beta-galactosidasa, manitol, sorbitol, inositol, ramnosa, sacarosa, melibiosa, amigdalina y arabinosa; y negativas para citocromo-c-oxidasa, arginina dehidrolasa, ornitina decarboxilasa, producción de H₂S, ureasa, triptófano deaminasa, indol y gelatinasa. Sólo se diferenciaron en la prueba del citrato, siendo una positiva (LPPA-3461) y otra negativa (LPPA-3463).

Para su correcta identificación se acudió a técnicas moleculares, secuenciando el ADN ribosomal 16S que se comparó con las secuencias depositadas en bases de datos (GenBank). Así, se vió que la cepa LPPA-3461 tenía similitud con *Gibbsiella quercinecans* Brady et al, y LPPA-3463 con *Brenneria goodwinii* Denman et al. Estas bacterias, como se ha indicado previamente, se han asociado por parte de investigadores británicos con el Decaimiento Agudo del Roble.

Dado que Brady et al (2016) consideran que



para identificar con precisión las bacterias es necesario obtener también las secuencias del gen *gyrB* (ADN girasa subunidad B), amplificamos este gen y, además, el gen *atpD* (ATP sintasa), incorporando ambos al estudio molecular. Estas secuencias corroboraron el mismo resultado que el obtenido con el ADN 16S.

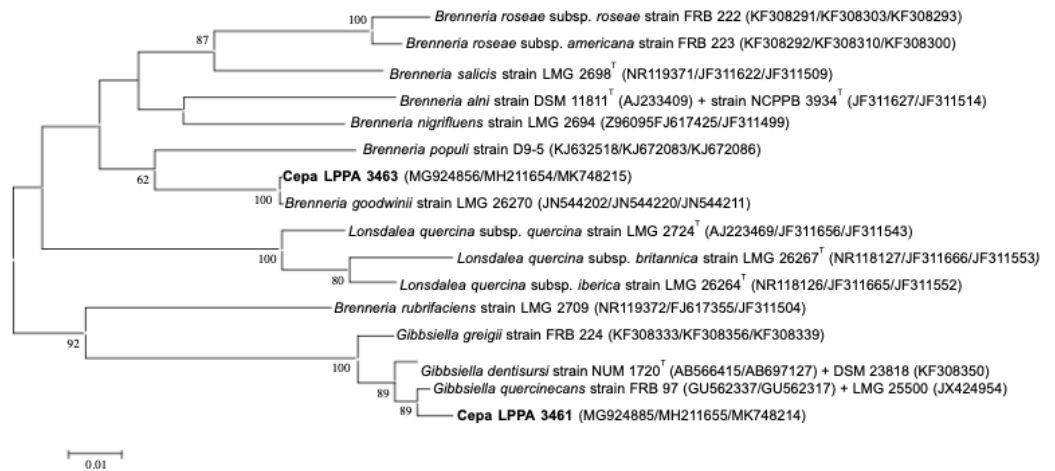
Para estudiar la relación de parentesco entre las bacterias diagnosticadas se realizó un árbol filogenético con los tres genes concatenados, ADN 16S, *gyrB* y *atpD*. Se utilizaron los métodos Neighbor-Joining (Saitou and Nei 1987) con el modelo Kimura-2 (Kimura 1980) y Maximum-Likelihood basado en el modelo Tamura-Nei (Tamura and Nei 1993), ambos con un "bootstrap" de



Figura 1.- Carbayo sintomático con exudados.

→

Figura 2.- Árbol filogenético realizado mediante el método "Maximum Likelihood" con las secuencias concatenadas de los genes 16S DNAr, *gyrB* y *atpD*, en el que se puede ver cómo las cepas LPPA 3461 y LPPA 3463 agrupan con *G. quercinecans* and *B. goodwinii*, respectivamente. Las distancias evolutivas se calcularon usando el modelo de Tamura-Nei. Se indican en las ramas los valores de "bootstrap" >50% (sobre 1.000 réplicas). El análisis incluyó 16 secuencias nucleotídicas, con un total de 2.487 posiciones por secuencia.



1.000 réplicas, mediante Mega 7 software (Kumar et al 2016). El resultado se puede ver en la Figura 2. Conviene aclarar que un "bootstrap" es un método estadístico que se centra en el remuestreo de datos dentro de una muestra aleatoria o al azar, para buscar una aproximación a la distribución de la variable analizada.

Para comprobar la patogenicidad de estas dos especies bacterianas en el carbayo, se realizaron inoculaciones de las mismas en bellotas (Biosca et al 2003), mediante inyección de una suspensión bacteriana de aproximadamente 10^8 ufc/ml (ufc, unidades formadoras de colonia). Como control se utilizaron bellotas inyectadas con agua estéril. Las bellotas se incubaron a 28°C en cámara

húmeda durante 15 días y el ensayo se repitió dos veces.

Al cabo de estos 15 días, se comprobó que el 80% de las bellotas inoculadas con *G. quercinecans* y el 90% de las inoculadas con *B. goodwinii*, presentaban podredumbres, mientras que el control sólo mostraba la marca del pinchazo (Figura 3).

La presencia de galerías del bupréstido *Agriilus biguttatus* no se ha observado en el árbol sintomático analizado, si bien este insecto está presente en Asturias (Arnáiz 1999).

G. quercinecans ya había sido descrita en España en *Quercus ilex* L. y en *Q. pyrenaica* Willd. (Brady et al 2010), mientras que *B. goodwinii* no se había encontrado en

→

Figura 3.- Bellotas inoculadas, a la izquierda con *B. goodwinii*, en el centro con *G. quercinecans* y a la derecha, con agua estéril.



nuestro país. Por lo tanto, ésta es la primera referencia de la presencia de *B. goodwinii* y *G. quercinecans* en *Q. robur* en España.

Referencias

- ARNÁIZ L. (1999). Los Buprestidos del cuadrante noroccidental español (Coleoptera, Buprestidae). *Graellsia*. 55: 163-176.
- BAKHSI GANJE M, SHAMS-BAKHSI M, MACKAY JOHN, RAHIMIAN H. (2019). Identification and characterization of bacterial strains associated with diseased oak trees in Northern Iran. *Forest Pathology*. 50 (4):e12571
- BIOSCA EG, GONZÁLEZ R, LÓPEZ-LÓPEZ MJ, SORIA S, MONTÓN C, PÉREZ-LAORGA E, LÓPEZ MM. (2003). Isolation and characterization of *Brenneria quercina*, causal agent for bark canker and drippy nut of *Quercus* spp. in Spain. *Phytopathology*. 93: 485-492.
- BRADY C, DENMAN S, KIRK S, VENTER S, RODRÍGUEZ-PALENZUELA P, COUTINHO T. (2010). Description of *Gibbsiella quercinecans* gen. nov., sp. nov., associated with Acute Oak Decline. *Syst. Appl. Microbiol.* 33: 444-450.
- DENMAN S, BRADY C, KIRK S, CLEENWERCK I, VENTER S, COUTINHO T, DE VOS P. (2012). *Brenneria goodwinii* sp. nov., associated with acute oak decline in the UK. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 2451-2456.
- DENMAN S, BROWN N, KIRK S, JEGER M, WEBBER J. (2014). A description of the symptoms of Acute Oak Decline in Britain and a comparative review on causes of similar disorders on oak in Europe. *Forestry*. 87: 535–551.
- DENMAN S, PLUMMER S, KIRK S, PEACE A, McDONALD JE. (2016). Isolation studies reveal a shift in the cultivable microbiome of oak affected with Acute Oak Decline. *Syst. Appl. Microbiol.* 39 (7): 484-490.
- KIMURA M. (1980). A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111–120.
- KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*. 33: 1870–1874.
- SAITOU N & NEI M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*. 4: 406–425. ■

Control de la paratuberculosis bovina: nuevos métodos de diagnóstico basados en la detección de biomarcadores bovinos

ROSA CASAS Goyos. Área de Sanidad Animal. SERIDA

CRISTINA BLANCO VÁZQUEZ. Área de Sanidad Animal. SERIDA

NATALIA IGLESIAS BESTEIRO. Área de Sanidad Animal. SERIDA

ANA BALSEIRO MORALES. Universidad de León. Instituto de Ganadería de Montaña

FERNANDO VICENTE. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. SERIDA

JAVIER AMADO FERNÁNDEZ. Área de Microbiología. Laboratorio de Sanidad Animal Principado de Asturias

MARÍA CANIVE. Departamento de Sanidad Animal. Grupo de Investigación en Micobacterias. NEIKER - Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Basque Research and Technology Alliance. Berreaga

RAMÓN A. JUSTE. Departamento de Sanidad Animal. Grupo de Investigación en Micobacterias. NEIKER - Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Basque Research and Technology Alliance. Berreaga

MARTA ALONSO-HEARN. Departamento de Sanidad Animal. Grupo de Investigación en Micobacterias. NEIKER - Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Basque Research and Technology Alliance. Berreaga

Antecedentes

La agricultura y la ganadería constituyen dos actividades esenciales en el ámbito económico y social del medio rural en Asturias. En este contexto, cabe destacar la importancia estratégica de la sanidad animal, ya que garantiza la salud y el bienestar animal, la salud pública, la seguridad alimentaria, la producción sostenible de alimentos y la conservación del medio ambiente (Rodríguez García y col., 2014). Además, la Sanidad Animal garantiza la sostenibilidad y competitividad de la producción ganadera y la economía rural, puesto que las enfermedades son responsables del 20 % de las pérdidas de la producción animal y constituyen una de las barreras al comercio de animales vivos y alimentos de origen animal.

La PTB es una enteritis granulomatosa crónica muy contagiosa, causada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Es uno de los principales procesos

patológicos que afectan a los rumiantes domésticos y silvestres en la Cornisa Cantábrica (Balseiro y col., 2008). Esta enfermedad es responsable de importantes pérdidas económicas en la industria láctea debido a que produce una disminución significativa de la producción de leche, el adelgazamiento progresivo de los animales, el aumento de los costes veterinarios y el sacrificio prematuro de los casos clínicos. Un estudio realizado en España mediante test ELISA en muestras de leche de tanque estimó que el 18 % de las explotaciones lecheras estaban infectadas (Sevilla y col., 2002). **En Asturias, en 2019, el 32,6 % de las explotaciones de ganado vacuno y el 1,9 % de los individuos analizados mediante ELISA para la detección de anticuerpos específicos frente a MAP, estaban infectados (datos aportados por la Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial del Principado de Asturias).** Por ello, es una enfermedad que preocupa tanto a ganaderos como a veterinarios. Además,



←
Figura 1.- Vacas mostrando distintos signos clínicos típicos (pérdida de peso y diarrea) de la PTB.

su importancia es aún mayor si tenemos en cuenta su potencial zoonótico, ya que se ha visto que su agente causal, es un posible factor desencadenante de enfermedades humanas autoinmunes como son la enfermedad de Crohn (Feller y col., 2007), diabetes tipo I (Niegowska y col., 2016), esclerosis múltiple (Yokoyama y col., 2018) o artritis reumatoide (Bo y col., 2018).

La PTB bovina se manifiesta bajo un amplio espectro de formas de infección que van desde formas latentes generalmente asintomáticas y caracterizadas por la presencia de lesiones histológicas focales en el tejido

intestinal, a formas más severas de la enfermedad, en las que las lesiones granulomatosas son claramente patentes (lesiones multifocales y difusas) (Vázquez y col., 2014), presentando entonces el animal los signos clínicos típicos asociados con la PTB. Estos signos consisten en trastornos diarreicos (intermitentes al principio y progresivamente más severos) y pérdida de peso progresiva (Figura 1). Varios estudios afirman que los terneros son más susceptibles a la infección volviéndose más resistentes con la edad (Larsen y col., 1962). La base de estas diferencias de susceptibilidad dependientes de la edad no ha sido bien documentada, sin



←
Figura 2.- Posibles estrategias para el control de la PTB bovina.

Técnica	Detección MAP	Diana	Muestra
Métodos de diagnóstico ante-mortem			
Aislamiento	Directa	Bacteria MAP	Heces
PCR a tiempo real	Directa	Genoma MAP	Heces
ELISA IDEXX	Indirecta	Anticuerpos MAP	Suero/leche
Interferón γ	Indirecta	Interferón γ	Sangre
Métodos de diagnóstico post-mortem			
Aislamiento	Directa	MAP	Tejidos
PCR a tiempo real	Indirecta	Genoma MAP	Tejidos
Histología (HE)	Indirecta	Lesiones microscópicas	Tejidos
ZN	Directa	Bacterias ácido-resistentes	Tejidos

El aislamiento y cultivo de MAP es la técnica de diagnóstico de referencia de la PTB; la PCR a tiempo real más generalizada y eficiente detecta dos dianas: un gen de copia única (F57) y una secuencia de inserción multicopia (IS900); Histología (HE): tinción hematoxilina-eosina del tejido intestinal e identificación de las lesiones granulomatosas típicas; ZN: tinción de Ziehl-Neelsen y visualización de los bacilos ácido-alcohol resistentes de MAP. Ver definiciones de las distintas técnicas de diagnóstico en el apartado correspondiente.

↑

Tabla 1.- Métodos utilizados actualmente para el diagnóstico de la PTB.

embargo, su correcta comprensión es fundamental para el desarrollo de programas de control efectivos (Mortier y col., 2013). La PTB es una enfermedad intestinal crónica de curso predominantemente subclínico. Una vez infectados los animales pueden no manifestar signos clínicos durante un largo periodo de tiempo (2-10 años), pero mientras tanto pueden estar eliminando MAP en las heces, calostro y leche, y por lo tanto, transmitiendo la enfermedad a otros animales en la ganadería (Bastida y Juste, 2011), originando importantes pérdidas económicas en las explotaciones y haciendo muy difícil el control de la enfermedad.

El control de la PTB bovina se ha visto obstaculizado por la falta de tratamientos y herramientas de diagnóstico efectivos (Barkema y col., 2017) (ver Figura 2). Asimismo, las vacunas frente a la PTB bovina son vacunas terapéuticas, que evitan la aparición de casos clínicos de la enfermedad, pero que no son capaces de prevenir la infección (Alonso-Hearn y col.,

2012). Estas vacunas reducen la severidad de las lesiones histopatológicas, la presencia de MAP en heces y tejidos, y las pérdidas económicas debidas a la disminución de la producción de leche y al acortamiento de la vida productiva del ganado en las explotaciones infectadas. Sin embargo, la prohibición del uso de la vacunación frente a la PTB bovina por parte de las autoridades sanitarias competentes (Directiva 78/52/CEE) debido a su interferencia con los Programas de Erradicación de la Tuberculosis Bovina ha hecho necesaria la búsqueda de nuevas estrategias de control de la PTB. Actualmente, el control de la PTB a nivel de rebaño se basa fundamentalmente en el saneamiento, así como en la prevención de la transmisión de MAP a animales susceptibles usando medidas higiénico-sanitarias adecuadas (Garry, 2011). El saneamiento consiste en la identificación de los animales infectados, especialmente animales asintomáticos que no manifiestan signos clínicos pero que están infectados y eliminan MAP al medio ambiente, y su retirada del gru-

po para suprimir las fuentes de infección y maximizar la vida productiva del resto de los animales. **Por ello, la eficacia de estos programas de control está fuertemente condicionada por los métodos de diagnóstico utilizados para la detección de los animales infectados.** Los ensayos diagnósticos ante-mortem actuales (ver Tabla 1 y apartado de definiciones) carecen de la sensibilidad necesaria para ser utilizados como herramientas diagnósticas en infecciones latentes, ya que la carga bacteriana y los niveles de anticuerpos que producen los animales en estas formas de infección son bajos mientras en infecciones patentes son más altos y frecuentemente detectables (Bastida y Juste, 2011). Aunque existen otros factores (Barkema y col., 2017) que han impedido el éxito de los programas de control de la PTB, está claro que **la detección de infecciones latentes sigue siendo un desafío y se necesitan nuevas herramientas de diagnóstico para poder controlar la propagación de la enfermedad**, así como vacunas eficaces que no interfieran con el diagnóstico de la TB bovina. Otra posible estrategia de control de la enfermedad es la selección de animales con un perfil genético resistente a la infección mediante la inclusión de la PTB en los programas de mejora genética de la raza frisona.

Planteamiento del estudio

Frente a las metodologías clásicas emergen nuevas tecnologías que se están utilizando para el desarrollo de métodos más eficientes de diagnóstico, inmunización y tratamiento de la paratuberculosis. **Entre éstas destacan las nuevas tecnologías “ómicas” como la transcriptómica y proteómica, que ofrecen una alternativa para abordar la detección de las distintas formas latentes y patentes en las que se presenta la infección mediante la identificación de biomarcadores asociados a las mismas (ver apartado de definiciones).** Estas tecnologías emergentes tienen un enorme potencial porque posibilitan el estudio de la patogénesis de la enfermedad a nivel molecular y celular a través de la identificación de determinados biomarcadores. Del mismo modo, pueden ser de aplicación para el desarrollo de herramientas de diagnóstico específicas (biomarcadores de diagnóstico), para monitorizar el curso y predecir el desenlace de la enfermedad (biomarcadores de pronóstico), para predecir la respuesta a tratamientos terapéuticos e intervenciones basadas en vacunas (biomarcador predictivo) y para el desarrollo de terapias (biomarcador terapéutico) (Seth y col., 2009; Carlomagno y col., 2017).

↓

Tabla 2.- Expresión diferencial de los genes codificadores de los biomarcadores seleccionados mediante análisis transcriptómico de sangre periférica de vacas de la raza frisona con lesiones histológicas de tipo focal o difuso frente a vacas control sin lesiones detectadas.

Biomarcador	Identificación Gen	Focal vs. Control		Difusa vs. Control	
		Razón media de duplicación	P	Razón media de duplicación	P
MMP8	XLOC_010350	1,89	0,00035		
ABCA13	XLOC_033714	3,74	0,00005		
FAM84A	XLOC_005071			2,15	0,00005
SPARC	XLOC_040915			2,21	0,00065
DES	XLOC_019473			3,75	0,00030

La razón media de duplicación (del inglés “mean Log2 fold change”) es una medida (ratio o razón) de las diferencias en los niveles de expresión de un gen entre dos formas de infección de la PTB, expresado como un logaritmo; MMP8, Matriz Metalopeptidasa 8; ABCA13, proteína de unión a ATP subfamilia A miembro 13; FAM84A, proteína con similitud de secuencia con el miembro 84A; SPARC, proteína secretada acídica y rica en cisteína; DES, Desmina.

Método diagnóstico	Focal (n=55)	Multifocal (n=18)	Difuso (n=15)	Sin Lesiones (n=6)	Ganadería libre de PTB (n=61)
ZN	49,1 %	94,4 %	100 %	0,0 %	ND
IDEXX ELISA	5,5 %	27,8 %	73,3 %	0,0 %	0,0 %
PCR FECAL	9,1 %	33,3 %	73,3 %	0,0 %	0,0 %
AISLAMIENTO FECAL	5,5 %	16,7 %	26,7 %	0,0 %	0,0 %
PCR TEJIDO	28,3 %	44,4 %	73,3 %	0,0 %	ND
AISLAMIENTO TEJIDO	28,3 %	44,4 %	66,7 %	0,0 %	ND
SIGNOS CLÍNICOS	0,0 %	21,4 %	64,3 %	0,0 %	0,0 %

ND, no determinado (animales vivos, no hay disponibilidad de tejidos para realizar esas pruebas diagnósticas); El cálculo del porcentaje de animales que muestran signos clínicos se basa únicamente en aquellos animales en los que se conocía su estado clínico (focal n=28, multifocal n=14, difuso n=14, sin lesiones n=4 y ganadería libre de PTB n=61). Ver definiciones de los distintos métodos de diagnóstico en el apartado correspondiente.

↑

Tabla 3.- Valoración del estado infeccioso (PTB) de las 155 vacas de raza frisona incluidas en el estudio.

Para abordar el estudio que presentamos aquí partimos de los resultados obtenidos en el proyecto RTA2014-00009-C02-00 en el que utilizamos el análisis transcriptómico para seleccionar 5 biomarcadores bovinos con altos niveles de expresión en sangre de animales infectados con lesiones focales y difusas frente a animales control no infectados sin lesiones (Tabla 2) (Alonso-Hearn y col., 2019).

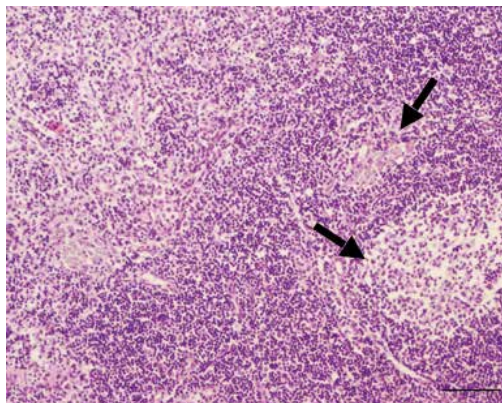
El objetivo principal del presente estudio es evaluar el potencial diagnóstico de ELISAs comerciales basados en la detección específica de esos cinco biomarcadores bovinos para detectar formas latentes y patentes de infección de MAP en ganado vacuno infectado de forma natural, utilizando muestras séricas de animales de referencia (n=155) procedentes de nuestras ganaderías colaboradoras. Las muestras se

→

Figura 3.- Lesiones macroscópicas en una vaca frisona con lesiones difusas. La pared intestinal aparece muy engrosada, lo que le otorga al intestino un aspecto externo de tubo de goma (A). La mucosa y la submucosa intestinal presentan gruesos pliegues que asemejan las circunvoluciones cerebrales con una ligera congestión en los ápices de los mismos (B).

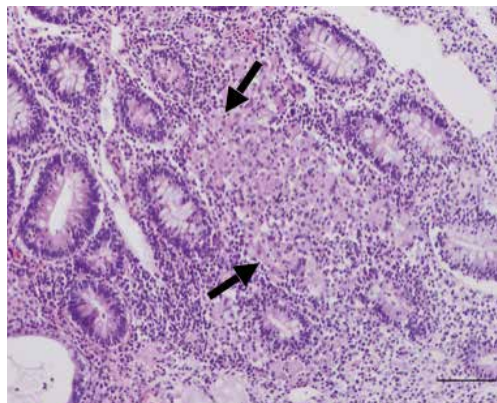


**LESIONES FOCALES
LINFONODO YEYUNAL**



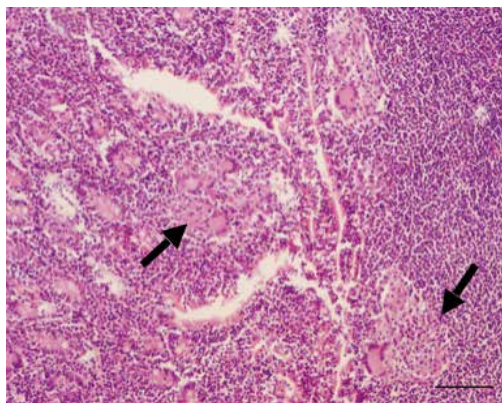
HE, 100X, barra: 100µm

**LESIONES MULTIFOCALES
VÁLVULA ILEOCECAL**



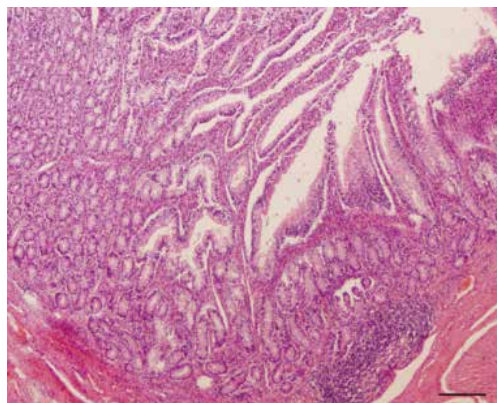
HE, 100X, barra: 100µm

**LESIONES DIFUSAS
VÁLVULA ILEOCECAL**



HE, 100X, barra: 100µm

**SIN LESIONES
VÁLVULA ILEOCECAL**



HE, 40X, barra: 200µm

←
Figura 4.- Clasificación histopatológica de los animales. Los animales incluidos en este estudio se clasificaron, de acuerdo con la presencia-ausencia, localización y extensión de las lesiones presentes en los tejidos intestinales en grupo focal, multifocal, difuso y sin lesiones. Las fechas indican la localización de granulomas de PTB.

recogieron a partir de 94 animales sacrificados procedentes de ganaderías con alta prevalencia de PTB y 61 animales obtenidos en una ganadería libre de PTB.

Resultados

El estado infeccioso de los animales utilizados en este estudio se valoró en base a su caracterización microbiológica, inmunológica e histopatológica (Tabla 3). Se tomaron muestras de sangre, heces y tejidos de todos los animales sacrificados y muestras de sangre y heces de los animales vivos de la ganadería libre de PTB. El examen patológico de las secciones del tejido intestinal permitió la observación de las lesiones macroscópicas (ver Figura 3) y la clasificación de los animales en cuatro grupos según el tipo y la extensión

de las lesiones microscópicas (González y col., 2005; revisado en Balseiro y col., 2019): focal (n=55, 58,51 %), multifocal (n=18, 19,14 %), difuso (n=15, 15,95 %) y sin lesiones histológicas detectables (n=6, 6,38 %) (ver Figura 4). Los distintos grupos histopatológicos son un reflejo de las distintas formas de infección en las que se manifiesta la PTB y corresponden con las formas epidemiopatogénicas (Vázquez y col., 2014) que expresan la transmisibilidad y el impacto patológico como aparentemente libres (sin lesiones), latentes (focales) y patentes (multifocales y difusas). En el grupo de animales con lesiones focales, el 76,36 % resultaron positivos por uno o varios de los métodos de diagnóstico utilizados (ver Tabla 1) mientras que el resto fueron negativos por todas las técnicas salvo la histología, no mostrando ninguno



↑

Figura 5.- Reactivos y equipos más relevantes para el desarrollo del ELISA basado en la detección del biomarcador ABCA13.

de los animales de este grupo focal signos clínicos asociados con la enfermedad. En el grupo de animales con lesiones multifocales, el 100 % de los animales fueron positivos al menos por una de las técnicas empleadas, por ejemplo, el 94,44 % de los animales fueron positivos por ZN. En este grupo el 21,43 % de los animales presentaron signos clínicos. Por último, en el grupo con lesiones difusas, el 100 % de los animales fueron positivos por ZN, y el 73,33 % resultaron positivos por tres métodos (ELISA de anticuerpos, y PCR a tiempo real de heces y tejidos). En este grupo se observó la mayor proporción de animales con signos clínicos asociados a la PTB (64,28 %). Sólo 6 animales de los 94 analizados mediante histología no mostraron lesiones detectables. Dada la dificultad que tuvimos para encontrar animales sin lesiones se decidió establecer para el estudio un grupo control no-infectado formado por estos 6 animales sin lesiones y los 61 animales de la ganadería libre de PTB.

Una vez valorado el estado infeccioso de los animales se investigó la concentración de cada biomarcador bovino (MMP8, ABCA13, FAM84A, SPARC y DES) en ng/mL en muestras de suero de los 155 animales mediante ELISAs comerciales dise-

ñados específicamente para la detección de dichos biomarcadores (Figura 5). Los datos obtenidos en los 5 ELISAs se evaluaron mediante análisis ROC (del inglés "Receiver Operating Characteristic Curve") para determinar el punto de corte, la sensibilidad y la especificidad de cada ELISA (ver apartado de definiciones). Además, los resultados obtenidos se compararon con los obtenidos con la prueba comercial de referencia utilizada para la detección específica de anticuerpos anti-MAP, el ELISA de IDEXX. Los resultados de este análisis ROC (Tabla 4) indicaron que el ELISA basado en la detección del biomarcador ABCA13 proporciona el mejor valor diagnóstico para la detección de animales con lesiones focales (sensibilidad 79,25 % y especificidad 93,44 %); el ELISA basado en la detección del biomarcador SPARC para la detección de animales con lesiones multifocales (sensibilidad 66,70 % y especificidad 95,10 %) y el ELISA basado en la detección del biomarcador MMP8 para la detección de animales con lesiones difusas (sensibilidad 100,00 % y especificidad 77,10 %). **Para la detección global de animales con cualquier tipo de lesión el ELISA basado en la detección del biomarcador ABCA13 (sensibilidad 70,60 % y especificidad 91,80 %) superó el valor diagnóstico de todos los biomarcadores e incluso el del**

ELISA	PUNTO DE CORTE	SE (%)	ES (%)	VD (%)
LESIÓN FOCAL (N=55) VS. CONTROL (N=67)				
BIO. ABCA 13	1,7	79,2	88,1	83,7
ELISA IDEXX	28,4	14,5	100,0	57,3
LESIÓN MULTIFOCAL (N=18) VS. CONTROL (N=67)				
BIO. SPARC	354,9	66,7	95,5	79,6
ELISA IDEXX	67,6	27,8	100	63,9
LESIÓN DIFUSA (N=15) VS. CONTROL (N=67)				
BIO. MMP8	40,2	100,0	71,6	85,8
ELISA IDEXX	19,6	86,7	97,0	91,8
CUALQUIER LESIÓN (N=88) VS. CONTROL (N=67)				
BIO ABCA 13	1,4	69,4	86,6	78,0
ELISA IDEXX	28,4	28,4	100,0	64,2

SE, sensibilidad; ES, especificidad; VD, valor diagnóstico (media aritmética de la sensibilidad y la especificidad); N, indica el número de animales por grupo. Ver apartado de definiciones.

ELISA comercial de IDEXX (sensibilidad 28,40 % y especificidad 100 %).

El valor diagnóstico del biomarcador ABCA 13 se mantuvo para todas las categorías histopatológicas de animales infectados, mejorando ampliamente las prestaciones de cualquier prueba de diagnóstico actualmente disponible. Por ello, su uso en los programas de control de la PTB permitiría una detección rápida y sensible de infecciones latentes y patentes, impidiendo la transmisión de MAP a otros animales de la explotación y mejorando así el control de la enfermedad.

Conclusión

Los ELISAs actuales, basados en la detección de anticuerpos específicos frente a MAP, son eficaces en la identificación de animales con infecciones patentes, sin embargo, las infecciones latentes pasan en su mayoría desapercibidas obstaculizando el control de la PTB y su erradicación. La alternativa que hemos presentado en este artículo, los ELISAs basados en la detección de biomarcadores bovinos y más concretamente el basado en la detección del biomarcador ABCA 13, parecen tener

el potencial de convertirse en una nueva herramienta de diagnóstico que mejore enormemente la sensibilidad en la detección de animales con formas latentes de infección. No obstante, sería conveniente confirmar estos resultados realizando una validación a gran escala del mismo. Una vez realizada, estos ELISAs podrían utilizarse: 1) en campañas de erradicación para identificar vacas eliminadoras antes de que empiecen a contaminar el medio y transmitir el patógeno, 2) para prevenir la compra de ganado infectado y evitar la difusión de MAP entre ganaderías y 3) para reducir la transmisión potencial de esta micobacteria a otras especies domésticas y animales silvestres susceptibles a la infección.

Definiciones

El aislamiento bacteriológico es un método de detección de bacterias mediante su aislamiento selectivo frente a otros contaminantes y su multiplicación en un medio óptimo que permita el crecimiento necesario para su identificación.

La PCR, reacción en cadena de la polimerasa (del inglés, polymerase chain reaction),

↑

Tabla 4.- Valor diagnóstico de los ELISAs basados en la detección de los biomarcadores seleccionados para el diagnóstico de ganado con diferentes tipos de lesiones histopatológicas en tejido intestinal. Comparación con los resultados obtenidos con el ELISA de IDEXX para la detección específica de anticuerpos anti-MAP.

es una técnica de amplificación específica de secuencias de DNA diana *in vitro*. **En la actualidad, la versión de PCR más utilizada es la PCR a tiempo real o PCR cuantitativa.** Se utiliza para amplificar y simultáneamente cuantificar el producto de la amplificación específica de un gen o fragmento de ADN diana durante la PCR y no solo al final de la reacción como ocurre en la PCR convencional.

ELISA son las siglas por las que se conoce al ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) y es el método estándar actualmente para la realización de pruebas de detección de moléculas orgánicas. Se trata de un método de determinación inmunológica que se basa en el reconocimiento específico entre un antígeno y un anticuerpo, que se detecta y cuantifica por medio de la determinación espectrofotométrica de la acción sobre un sustrato específico de un enzima que va ligado al antígeno o al anticuerpo. Según esté diseñado sirve para detectar/cuantificar la cantidad de anticuerpos específicos frente a un antígeno o la cantidad de antígeno presente en una muestra de suero, sangre, leche, otros fluidos corporales, etc. Esta prueba está limitada en la caso de la paratuberculosis por su baja sensibilidad, ya que no se desarrollan cantidades suficientes de anticuerpos para ser detectadas hasta las fases más avanzadas de la enfermedad. Aún así, en formas difusas con carga bacteriana baja, la respuesta de anticuerpos también puede ser débil.

Ensayo del Interferón gamma (IFN- γ), o más precisamente, ensayo de liberación de IFN- γ . Se trata de un método de tipo ELISA sándwich (doble antígeno y/o anticuerpo) que detecta si se ha provocado una respuesta inmune específica mediada por células T cuando la sangre de un individuo se incubada con el antígeno correspondiente. Esta técnica mide la diferencia de señal de IFN- γ para muestras de sangre entera activadas con un extracto antigénico específico de MAP y un antígeno no específico (extracto de *M. phlei*). Esta técnica refleja que el individuo ha estado expuesto a MAP pero no puede discriminar entre individuos que han controlado la infección e individuos que tienen una enfermedad sub-clínica.

Tinción de Zielh-Neelsen (ZN), es un método de tinción que se utiliza para la detección específica de bacterias ácido alcohol resistentes como las micobacterias en el examen microscópico de muestras de biológicas.

Las tecnologías “Ómicas” derivan su nombre del sufijo “-oma” que, en ciencias biológicas, ha venido a significar aproximadamente “totalidad de un sistema complejo”, y son las disciplinas que analizan el sistema definido por el prefijo. En particular se aplican al análisis global de genes (genómica), mRNA (transcriptómica), proteínas (proteómica) y metabolitos (metabolómica) en diferentes tipos de muestras biológicas bajo determinadas condiciones experimentales.

- La **transcriptómica** es la rama de la genética que estudia los organismos en términos de su transcriptoma, es decir, el conjunto total de moléculas de ARNm de un organismo bajo determinadas condiciones.
- La **proteómica** es un área de la biología cuyo objetivo es el estudio de los proteomas. Un proteoma es el conjunto de proteínas expresadas por un genoma, una célula o un tejido. La aplicación de la proteómica tiene un enorme potencial para el desarrollo de métodos de diagnóstico y pronóstico de enfermedades y para la búsqueda de dianas que permitan el diseño de nuevos fármacos y vacunas.

Un biomarcador o marcador biológico es una molécula (ej. ARNm, microARNs y proteínas del hospedador) que puede medirse objetivamente y por la cual se puede identificar un proceso fisiológico o patológico.

Curvas ROC (Burgueño col., 1995). La calidad de una prueba diagnóstica se juzga por su capacidad para distinguir entre estados alternativos de salud (exactitud). Clásicamente, la exactitud de una prueba diagnóstica se ha evaluado en función de la sensibilidad y la especificidad. Sin embargo, éstas varían en función del criterio elegido como punto de corte entre la población sana y la enferma. Una forma más global de conocer la calidad de la prueba en el espectro completo de puntos de corte es

mediante curvas ROC (del inglés-receiver operating characteristics, características operativas del receptor) que constituyen una herramienta fundamental en el proceso de evaluación y uso de pruebas diagnósticas.

El punto de corte de un ELISA, es un valor numérico que define cuando la prueba es positiva o negativa. En función del punto de corte seleccionado para una prueba habrá variación en la sensibilidad y especificidad. Si el punto de corte es alto, la sensibilidad disminuye, porque seremos muy “estrictos” a la hora de identificar un caso positivo.

La sensibilidad de la técnica nos indica la fracción de verdaderos positivos, es decir, la fracción de animales con lesiones detectadas que es positiva en los ELISAs.

La especificidad de la técnica nos indica la fracción de verdaderos negativos, es decir, la fracción de animales control sin lesiones que es negativa en los ELISAs.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA RTA-2014-00009-C02), el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MICINN RTI2018-094192-R-C22), Fondos Europeos para el Desarrollo Regional (FEDER) y fondos regionales PCTI 2018–2020 (GRUPIN: IDI2018-000237). Agradecemos al INIA la financiación de los contratos pre-doctorales de formación de Cristina Blanco Vázquez y María Canive.

Nos gustaría agradecer la asistencia técnica de la Unidad de Asesoramiento Estadístico de los Servicios Científico-Técnicos de la Universidad de Oviedo, la asistencia en los muestreos de nuestras ganaderías colaboradoras y los Servicios Veterinarios ASTEGA y la colaboración de los operarios de campo del SERIDA en la toma de muestras y el cuidado y mantenimiento de los animales.

Referencias bibliográficas

- ALONSO-HEARN, M., MOLINA, E., GEIJO, M., VÁZQUEZ, P., SEVILLA, I.A., GARRIDO, J.M. & JUSTE, R.A. (2012). Immunization of adult dairy cattle with a new heat-killed vaccine is associated with longer productive life prior to cows being sent to slaughter with suspected paratuberculosis. *Journal of Dairy Science* 95, 618–629.
- ALONSO-HEARN, M., CANIVE, M., BLANCO-VÁZQUEZ, C., TORREMOCHA, R., BALSEIRO, A., AMADO, J., VARELA-MARTÍNEZ, E., RAMOS, R., JUGO, B.M. & CASAIS, R. (2019). RNA-Seq analysis of ileocecal valve and peripheral blood from Holstein cattle infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* revealed dysregulation of the CXCL8/IL8 signaling pathway. *Scientific Reports* 9, 14845.
- BALSEIRO, A., GARCÍA MARÍN, J.F., SOLANO, P., GARRIDO, J.M. & PRIETO, J.M. (2008). Histopathological classification of lesions observed in natural cases of paratuberculosis in free-ranging fallow deer (*Dama dama*). *Journal of Comparative Pathology* 138, 180-188.
- BALSEIRO, A., PÉREZ, V., JUSTE R.A. (2019). Chronic regional intestinal inflammatory disease: A transspecific slow Infection? *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 62, 88-100.
- BARKEMA, H.W., ORSEL, K., NIELSEN, S.S., KOWTS, A.P., RUITTEN, V.P.M.G., BANNANTINE, J.P., KEEFE, G.P., KELTON, D.F., WELL, S.J., WHITTINGTON, R.J., MACKINTOSH, C.G., MANNING, E.J., WEBER, M.F., HEURER, C., FORDE, T.L., RITTER, C., ROCHE, S., CORBETT, C.S., WOLD, R., GRIEBEL, P.J. & DE BUCK, J. (2017) Knowledge gaps that hamper prevention and control of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection. *Transboundary and Emerging Diseases* 65, 125-148.
- BASTIDA, F. & JUSTE, R.A. (2011). Paratuberculosis control: a review with a focus on vaccination. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines* 9, 8.
- BO M, ERRE GL, NIEGOWSKA M, PIRAS M, TARAS L, LONGU MG, PASSIU G, SECHI LA. (2018). Interferon regulatory factor 5 is a potential target of autoimmune response triggered by Epstein-Barr virus and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in rheumatoid arthritis: investigating a mechanism of molecular mimicry. *Clinical Experimental Rheumatology* 36(3): 376-381.

- BURGLUEÑO, M.J., GARCÍA-BASTOS, J.L., GONZÁLEZ-BUITRAGO, J.M. (1995). Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. *Medicina Clínica* 104, 661-670.
- CARLOMAGNO, N., INCOLLING, P., TAMMRO, V., PELLISO, G., RUPEALTA, N., CHIACCHIO, G., SANDOVAL SOTELO, M.L., MINIERI, G., PISANI, A., RICCIO, E., SABBATINI, M., BRACALE, U.M., CALOGERO, A., DODARO, C.A. & SANTANGELO, M. (2017). Diagnostic, Predictive, Prognostic, and Therapeutic Molecular Biomarkers in Third Millennium: A Break through in Gastric Cancer. *Biomed Research International*, 7869802.
- FELLER, M., HUWILER, K., STEPHAN R., ALTPETER, E., SHANG, A., FURRER, H., PFYFFER, G.E., JEMMI, T., BALMGARTNER, A., EGGER, M. (2007). *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* and Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infectious Diseases* 7(9): 607-613.
- GARRY, F. (2011). Control of paratuberculosis in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27, 599-607.
- GONZÁLEZ, J., GEJO, M.V., GARCÍA-PARIENTE, C., VERNA, A., CORPA, J.M., REYES, L.E., FERRERAS, M.C., JUSTE, R.A., GARCÍA MARÍN, J.F. & PÉREZ, V. (2005). Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle. *Journal of Comparative Pathology* 133, 184-196.
- LARSEN, A.B., MERKAL, R.S. & SULIP, R.C. (1975). Age of cattle as related to resistance to infection with *Mycobacterium paratuberculosis*. *American Journal of Veterinary Research* 36, 255-257.
- MORTIER, R.A.R., BARKEMA, H.W., BYSTROM, J.M., ILLANES, O., ORSEL, K., WOLF, R., ATKINS, G. & DE BUCK, J. (2013). Evaluation of age-dependent susceptibility in calves infected with two doses of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* using pathology and tissue culture. *Veterinary Research* 44, 94.
- NIEGOWSKA, M., RAPINI, N., PICCINI, S., MAMELI, G., CAGGIU, E., MANCA, BITTI, M.L., SECHI, L.A. (2016). Type 1 diabetes at-risk children highly recognize *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* epitopes homologous to human Znt8 and proinsulin. *Scientific Reports* 6: 22266.
- RODRÍGUEZ GARCÍA, M.J., RANZ CASARES, A., BARREIRO MORÁN, B., DEBECQUE PEÑA, J., SANZ FERNÁNDEZ, A., RUEDA PÉREZ, P. (2014). La biotecnología en Sanidad Animal. *Arbor* 190(768), a 154.
- SETH, M., LAMONT, E.A., JANAGAMA, H.K., WIDDEL, A., VULCHANOVA, L., STABEL, J.R., WATERS, W.R., PALMER, M.V. SREEVATSAN, S. (2009). Biomarker discovery in subclinical mycobacterial infections of cattle. *PLoS One* 4, e5478.
- SEVILLA, I., ADURIZ, G., GARRIDO, J.M., GEJO, M.V., JUSTE R.A. 2002. A preliminary survey on the prevalence of paratuberculosis in dairy cattle in Spain by bulk milk PCR. 7th International Colloquium on Paratuberculosis. Bilbao, 11- 15th june.
- VÁZQUEZ, P., GARRIDO, J.M., MOLINA, E., GEJO, M.V., GÓMEZ, N., PÉREZ, V., SEVILLA, I.A., ALONSO-HEARN, M., CORTÉS, A., JUSTE, R.A. (2014) Latent infections are the most frequent form of paratuberculosis in slaughtered Friesian cattle. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12(4): 1049-1060.
- WINDSOR, P.A. & WHITTINGTON, R.J. (2010). Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. *The Veterinary Journal* 184, 37-44.
- YOKOYAMA, K., COSSU D., HOSHINO, Y., TOMIZAWA, Y., MOMOTANI, E., HATTORI, N. (2018) Anti-mycobacterial antibodies in paired cerebrospinal fluid and serum samples from Japanese patients with multiple sclerosis or neuromyelitis optica spectrum disorder. *Journal of clinical medicine* 7(12): 522. ■

Causas de mortalidad de osos pardos necropsiados entre 1998 y 2018 en Asturias y Castilla y León

ANA BALSEIRO. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. Departamento de Sanidad Animal, Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León)

LUIS JOSÉ ROYO. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario del Principado de Asturias (SERIDA)

ELENA GAYO. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.

RAMÓN BALSERA. Consejería de Fomento, Ordenación del Territorio y Medio Ambiente

OLGA ALARCIA. Consejería de Fomento y Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León, Dirección General de Patrimonio Natural y Política Forestal

JUAN FRANCISCO GARCÍA MARÍN. Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. Departamento de Sanidad Animal, Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Universidad de León)

La población de oso pardo europeo (*Ursus arctos arctos*) ubicada en la Cordillera Cantábrica representa el límite suroeste de distribución de esta especie en Europa. Al igual que otras poblaciones de osos en el continente, experimentó un declive dramático en el número de individuos en la segunda mitad del siglo XX, situándose en menos de 100 individuos en la década de los noventa. La población además quedó dividida en dos subpoblaciones - occidental y oriental - separadas unos 50 kilómetros, favorecido este hecho por la presencia de barreras geográficas. El establecimiento de una legislación protectora, junto con planes de seguimiento y conservación han llevado a una recuperación de la población de oso pardo en las últimas dos décadas, con un aparente aumento en el número de individuos, estimándose en 2019 entre 230-260 individuos. La población occidental presenta aproximadamente 200 individuos y se localiza en Galicia, Asturias y Castilla y León. La población oriental por su parte incluye unos 30 individuos y ocupa una pequeña superficie de Asturias, Palencia y Cantabria. A nivel internacional, el oso pardo cantábrico está incluido en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión

Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y está catalogado como en peligro de extinción.

La identificación de las causas de mortalidad en poblaciones naturales silvestres es de gran importancia no solo para la detección y reconocimiento de posibles riesgos de conservación, sino también para un correcto diseño de las estrategias y programas de gestión. Cuando, como en este caso, se trata de especies en peligro de extinción es muy complicado desde el punto de vista ético y conservacionista establecer mecanismos de vigilancia sanitaria activa. Por lo tanto, sistemas de vigilancia sanitaria pasiva como la realización de necropsias regladas en el mayor número de especies y animales posibles, se convierten en unas de las mejores herramientas de estudio epidemiológico.

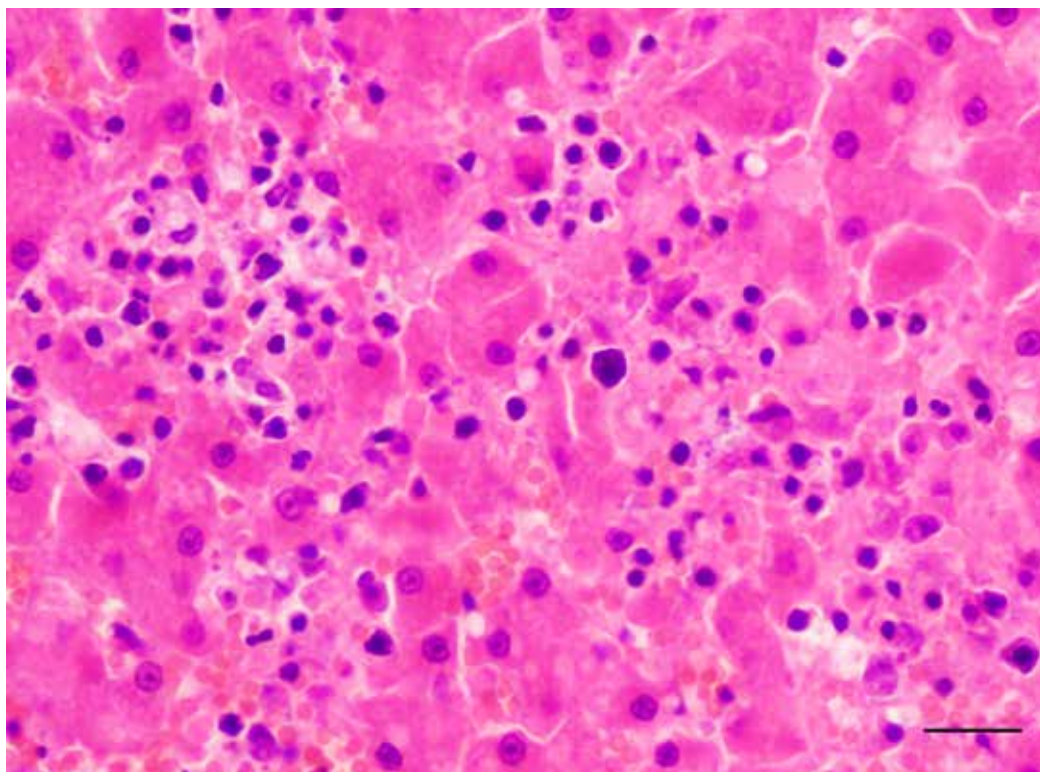
Los estudios de mortalidad y los datos sanitarios son escasos en la pequeña y amenazada población de oso pardo de la Cordillera Cantábrica debido sobre todo al bajo número de individuos, su comportamiento esquivo y alta movilidad, y la escasez de programas de seguimiento de osos mediante radio y/o GPS hasta la fecha. Todo

Oso	Fecha	Edad	Sexo	Causa de muerte	Clasificación de muerte
1	08/05/1998	7 años	Macho	Lazo/miopatía/miositis gangrenosa (<i>Clostridium sordellii</i> y <i>C. bifermentans</i>)	H/I
2	12/06/1998	Osezno	Hembra	Infanticidio	NH/NI
3	10/06/2000	Adulto	N.d.	N.d.	-
4	06/06/2005	Subadulto	Macho	N.d.	-
5	26/09/2005	Adulto	Macho	Disparo	H/NI
6	19/11/2005	Adulto	N.d.	Veneno: estricnina	H/NI
7	14/06/2008	1 año	Macho	Infanticidio	NH/NI
8	27/08/2012	Adulto	Macho	Lazo/miositis gangrenosa (<i>Clostridium sordellii</i>)	H/I
9	29/10/2012	9 meses	Hembra	Manejo/miopatía	H/NI
10	12/06/2014	3 años	Macho	Pelea/miositis gangrenosa (<i>Clostridium sordellii</i> y <i>C. septicum</i>)	NH/I
11	15/06/2014	5 años	Macho	Hepatitis canina infecciosa (CA _{AdV} -1)	NH/I
12	12/12/2014	9 años	Macho	Pelea/septicemia	NH/I
13	29/04/2015	20 años	Hembra	Neoplasia: colangiocarcinoma	NH/NI
14	23/05/2015	4 meses	Macho	Hepatitis canina infecciosa (CA _{AdV} -1)	NH/I
15	16/10/2015	Adulto	Macho	Traumas/miositis gangrenosa	NH/I
16	05/03/2016	Adulto	Macho	Traumas por caída	NH/NI
17	08/10/2016	Subadulto	Macho	Disparo	H/NI
18	27/11/2016	6 años	Hembra	Lazo	H/NI
19	07/01/2017	6 años	Macho	Intoxicación por hongos	NH/NI
20	03/04/2017	3 meses	Hembra	Hepatitis canina infecciosa (CA _{AdV} -1)	NH/I
21	21/04/2017	19 años	Macho	Pelea/despeñamiento	NH/NI
22	21/04/2017	20 años	Macho	Pelea/despeñamiento	NH/NI
23	29/09/2018	4 años	Hembra	Traumas/miositis gangrenosa (<i>Clostridium sordellii</i>)	NH/I
24	27/10/2018	5 años	N.d.	N.d.	-
25	08/11/2018	7 años	Macho	N.d.	-



Tabla 1.- Datos disponibles, causa de muerte, hallazgos patológicos y clasificación de las causas de muerte de 25 osos necropsiados entre 1998 y 2018 en Asturias y Castilla y León.

N.d.: no determinada. CA_{AdV}-1: Adenovirus canino tipo 1; H: muerte por intervención humana; NH: muerte sin intervención humana; I: muerte con etiología infecciosa; NI: muerte sin etiología infecciosa. Los osos 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 14, 16, 17, 19, 20, 21, 22 y 23 proceden de Asturias y los osos 5, 7, 9, 11, 12, 15, 18, 24 y 25 de Castilla y León.



←
Figura 1.- Imagen histológica de hígado de un oso cuya muerte fue causada por el Adenovirus canino tipo 1 (CA_{AdV}-1), agente etiológico de la hepatitis infecciosa canina. Se observa necrosis de hepatocitos e infiltrado inflamatorio principalmente de linfocitos. Tinción de hematoxilina-eosina, barra = 20 micras.

ello dificulta la detección de los osos que mueren en la naturaleza, impidiendo en muchos casos la realización de necropsias y, por lo tanto, la determinación de las causas de muerte.

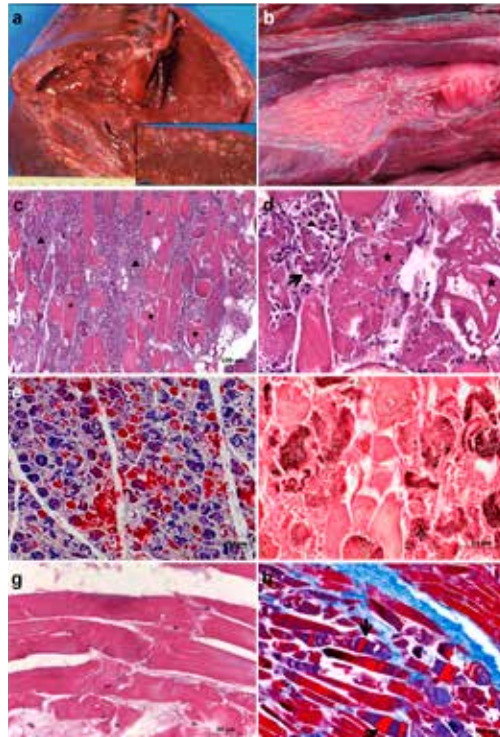
Una vez introducido el problema, el objetivo del presente trabajo ha sido describir las causas confirmadas de muerte y los hallazgos más significativos en veinticinco osos necropsiados en Asturias y Castilla y León durante 20 años (1998-2018) (Tabla 1). Los animales hallados muertos se sometieron a una necropsia reglada y se tomaron diferentes muestras de tejidos para la realización de estudios clínicos, histológicos, bacteriológicos, moleculares y toxicológicos, algunos de ellos en el SERIDA y la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León y otros en laboratorios externos acreditados.

Las causas de muerte se clasificaron en base a dos criterios: (1) causadas o no por intervención humana y (2) causadas o no por etiología infecciosa (Tabla 1). En cuatro osos no se pudo determinar la causa de muerte debido a que los animales se encontraban en muy mal estado o debido a que solo se encontraron restos de los mismos. Según la primera clasificación catorce de los

21 (66,7%) osos pardos en los que se pudo determinar la causa de la muerte murieron por causas no relacionadas con intervención humana entre las que se encontraban lesiones traumáticas ($n = 9$, 42,9%) [peleas ($n = 4$, 19%), traumas de origen desconocido ($n = 3$, 14,3%) o infanticidio ($n = 2$, 9,5%)], hepatitis infecciosa canina ($n = 3$, 14,3%; Figura 1) causada por el Adenovirus canino tipo 1 (CA_{AdV}-1), neoplasia ($n = 1$, 4,8%) o intoxicación por hongos ($n = 1$, 4,8%). En contraste, siete (7/21, 33,3%) osos pardos murieron por causas directamente relacionadas con intervención humana como caza ilegal llazo ($n = 3$, 14,3%) o disparo $n = 2$, (9,5%), miopatía de estrés secundaria a manejo ($n = 1$, 4,8%) o envenenamiento por estricnina ($n = 1$, 4,8%). Si tenemos en cuenta la segunda clasificación, el 57,1% de los animales murieron por causas con etiología no infecciosa y el 42,9% por causas con etiología infecciosa como hepatitis infecciosa canina o miositis gangrenosa provocada en la mayoría de los casos por *Clostridium sordellii*. Como se muestra en la Tabla 1, seis de los animales estudiados presentaron infección bacteriana secundaria a un evento traumático primario. Además se observó miopatía por estrés en dos osos (Figura 2).

→

Figura 2.- Miopatía por estrés/esfuerzo en oso pardo. (a, c, d, e, f) Oso 1; (b, g, h) Oso 9 (ver detalles en Tabla 1). (a) y (b) corresponden a lesiones macroscópicas en músculo cardíaco y esquelético. Se observan principalmente áreas pálidas y aclaradas. Las imágenes (c-h) corresponden a lesiones microscópicas observadas en estos animales. (c) Degeneración hialina extensa en músculo femoral, con fibras muy contraídas (asteriscos), necrosis coagulativa y áreas de lisis miofibrilar (estrellas), así como infiltrado compuesto principalmente por linfocitos y macrófagos (puntas de flecha). Tinción de hematoxilina-eosina; (d) Necrosis de fibras musculares (estrellas) con células satélite supervivientes (flecha) y macrófagos (punta de flecha), todo ello indicativo de eventos de regeneración. Tinción de hematoxilina-eosina; (e) Se observa necrosis y lisis de fibras musculares mediante la tinción de Mallory-Azan; (f) Fenómenos de calcificación (mineralización), hialinización y necrosis de fibras musculares. Tinción de Von Kossa; (g) Degeneración hialina en una sección longitudinal del músculo intercostal. En este caso no hay infiltrado. Tinción de hematoxilina-eosina; (h) Se observa necrosis y bandas de contracción (flechas) en fibras musculares. Tinción de Mallory-Azan.



El hecho de que un alto porcentaje de los animales murieran por causas de etiología infecciosa es de gran relevancia y contrasta con los datos de causa de muerte anteriormente descritos para otras poblaciones de osos a nivel mundial, donde las enfermedades infecciosas en ningún caso se describen como una causa relevante de muerte. Los resultados obtenidos proporcionan información valiosa sobre los factores que amenazan a esta población en recuperación y pueden ayudar en los proyectos y esfuerzos de gestión y conservación que se lleven a cabo en el futuro. Más aún cuando la presencia de enfermedades infecciosas como la hepatitis infecciosa canina puede conllevar una reducción de la variabilidad genética de esta población por la muerte temprana de futuros progenitores. En este sentido, dos de los cinco oseznos (40 %) murieron a causa de hepatitis infecciosa canina (ver Tabla 1).

Cabe asimismo destacar que en dos animales se observó miopatía como consecuencia de un esfuerzo y estrés extremo. Este hecho pone de manifiesto que, en los protocolos de manejo de los osos, en la manipulación de estos animales en vida debe minimizarse el estrés tanto como sea posible. Algunas medidas para reducir el

estrés y las complicaciones debidas a la miopatía de captura podrían incluir minimizar el ruido durante el manejo, limitar las capturas a períodos con baja temperatura o proporcionar suplementos como bicarbonato de sodio, selenio o vitamina E; medidas que han sido eficaces en el manejo de otras especies.

A diferencia de otros estudios de mortalidad de oso donde los accidentes de tráfico son una causa importante de muerte, en la población de osos de la Cordillera Cantábrica ésta no es una causa relevante de muerte a pesar de dos casos de muerte por atropello notificados uno en 2008 y otro recientemente en 2020, pero que no están incluidos en este estudio.

El oso pardo es una de las especies silvestres más emblemáticas de la Península Ibérica, lo que exige grandes esfuerzos para la conservación de su hábitat, población y variabilidad genética. Actualmente estos esfuerzos económicos y de personal se están llevando a cabo tanto por las Administraciones públicas y entidades de investigación como por las ONG conservacionistas, aunque muchas veces la sanidad animal no es el objetivo principal. Este control sanitario, entendido bajo el paraguas del concepto “One Health” o “Una sola salud”, debe incluir tanto a las especies diana del esfuerzo de conservación, en este caso al oso pardo, como a las especies con las que cohabita, incluidas otras silvestres (lobos, zorros, mustélidos) y domésticas (perros) e incluso al hombre.

En definitiva, este trabajo pone de manifiesto que los esfuerzos de conservación que se están llevando a cabo en la actualidad pueden no ser suficientes, si las medidas sanitarias y de vigilancia epidemiológica no se equiparan en importancia y exigencia al resto de medidas de gestión.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por el Principado de Asturias, PCTI 2018–220 (GRUPIN: IDI2018-000237 y FEDER). Especial agradecimiento a los compañeros del SERIDA, Universidad de León, Sociedad de Servicios del Principado de Asturias (SERPA), Servicio de Espacios

Protegidos y Conservación de la Naturaleza, Dirección General de Biodiversidad de la Viceconsejería de Medio Ambiente del Principado de Asturias y Consejería de Fomento y Medio Ambiente de la Junta de Castilla y León por su inestimable colaboración.

Este artículo ha sido adaptado de: Mortality Causes in Free-Ranging Eurasian Brown Bears (*Ursus arctos arctos*) in Spain 1998-2018. Balseiro A, Royo LJ, Gayo E, Balseira R, Alarcia O, García Marín JF. *Animals* (Basel). 2020, 10(9): E1538. doi: 10.3390/ani10091538.

Bibliografía

- NAVES, J.; WIEGAND, T.; FERNÁNDEZ, A.; STEPHAN, T. *Riesgo de Extinción del Oso Pardo Cantábrico*; Fundación Oso de Asturias: Oviedo, Spain, 1999.
- GONZÁLEZ, E.G.; BLANCO, J.C.; BALLESTEROS, F.; ALCARAZ, L.; PALOMERO, G.; DOADRIO, I. Genetic and demographic recovery of an isolated population of brown bear *Ursus arctos* L., 1758. *Peer J.* **2016**, 4, 1928, doi:10.7717/peerj.1928.
- McLELLAN, B.N.; PROCTOR, M.F.; HUBER, D.; MICHEL, S. (IUCN SSC Bear Specialist Group). Brown bear (*Ursus arctos*) isolated populations (Supplementary Material to *Ursus arctos arctos* Red-listing account). In *The IUCN Red List of Threatened Species*; IUCN: Gland, Switzerland, 2016.
- BENN, B. Grizzly Bear Mortality in the Central Rockies Ecosystem, Canada. M.Sc. Thesis, University of Calgary, Calgary, Canada, 1998.
- MÖRNER, T.; ERIKSSON, H.; BRÖJER, C.; NILSSON, K.; UHLHORN, H.; ÅGREN, E.; SEGERSTAD, C.H.A.; JANSSON, D.S.; GAVIER-WIDÉN, D. Diseases and mortality in free-ranging brown bear (*Ursus arctos*), gray wolf (*Canis lupus*), and wolverine (*Gulo gulo*) in Sweden. *J. Wildl. Dis.* **2005**, 41, 298–303, doi:10.7589/0090-3558-41.2.298.
- NINYEROLA, M.; PONS, X.; ROURE, J.M. *Atlas Climático Digital de la Península Ibérica. Metodología y Aplicaciones en Bioclimatología y Geobotánica*, 1st ed.; Universidad Autónoma de Barcelona: Bellaterra, Spain, 2005.
- BALSEIRO, A.; OLEAGA, ÁLVARO; POLLEDO, L.; ADURIZ, G.; ATXAERANDIO, R.; KORTABARRIA, N.; MARÍN, J.F.G. *Clostridium sordellii* in a Brown Bear (*Ursus arctos*) from Spain. *J. Wildl. Dis.* **2013**, 49, 1047–1051, doi:10.7589/2013-03-065.
- MARÍN, J.F.G.; ROYO, L.J.; OLEAGA, Á.; GAYO, E.; ALARCIA, O.; PINTO, D.; MARTÍNEZ, I.Z.; GONZÁLEZ, P.; BALSERA, R.; MARCOS, J.L.; et al. Canine adenovirus type 1 (CAV-1) in free-ranging European brown bear (*Ursus arctos arctos*): A threat for Cantabrian population? *Transbound. Emerg. Dis.* **2018**, 65, 2049–2056, doi:10.1111/tbed.13013.
- BALSEIRO, A.; ROYO, L.J.; GAYO, E.; MARÍN, J.F.G. Cholangiocarcinoma in a Free-Ranging Eurasian Brown Bear (*Ursus arctos arctos*) from Northern Spain. *J. Wildl. Dis.* **2020**, 56, 251, doi:10.7589/2019-03-054.
- KLEVEZAL, G.A. *Recording Structures of Mammals. Determination of Age and Reconstruction of Life History*. AA Balkema Publishers: Rotterdam, The Netherlands, 1996.
- BARSZCZ, K.; PRZESPOLEWSKA, H.; OLBRYCH, K.; CZOPOWICZ, M.; KLEĆKOWSKA-NAWROT, J.; GOŹDZIEWSKA-HARŁAJCZUK, K.; KUPCZYŃSKA, M. The morphology of the adrenal gland in the European bison (*Bison bonasus*). *BMC Veter. Res.* **2016**, 12, 1–11, doi:10.1186/s12917-016-0783-8.
- SOMMER, S. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Front. Zoöl.* **2005**, 2, 16, doi:10.1186/1742-9994-2-16.
- SWENSON, J.E.; TABERLET, P.; BELLEMMAIN, E. Genetics and conservation of European brown bears *Ursus arctos*. *Mammal Rev.* **2011**, 41, 87–98, doi:10.1111/j.1365-2907.2010.00179.x.
- NAVES, J.; FERNÁNDEZ-GIL, A.; GARCÍA-MARÍN, F.; DELIBES, M. Brown bear death related to

- capture myopathy and *Clostridium chauvoei* toxæmia (Somiedo Natural Park, Spain). In Proceedings of the 12th International Conference on Bear Research and Management, International Association for Bear Research and Management, Poiana Brasov, Brasov, Romania, 1999; pp. 35.
- CATTET, M.R.L.; STENHOUSE, G.; BOLLINGER, T. Exertional Myopathy in a Grizzly Bear (*Ursus arctos*) Captured by Leghold Snare. *J. Wildl. Dis.* **2008**, *44*, 973–978, doi:10.7589/0090-3558-44.4.973.
- KREEGER, T.J.; WHITE, P.J.; SEAL, U.S.; TESTER, J.R. Pathological Responses of Red Foxes to Foothold Traps. *J. Wildl. Manag.* **1990**, *54*, 147, doi:10.2307/3808915.
- HEWITT, D.G. Biology and Management of White-tailed Deer. CRC Press: London UK, 2011; pp. 65.
- KYRITSI, E.M.; SERTEDAKI, A.; CHARMANDARI, E.; CHROUSOS, G.P. Familial or sporadic adrenal hypoplasia syndromes. In *Endotext*; New, M.; Perreault, L.; Purnell, J.; Rebar, R.; Singer, F.; Trencé, D.L.; Vinik, A.; Wilson, D.P., Eds; MDText.com: South Dartmouth, MA, USA, 2018.
- PALOMERO, G.; BLANCO, J.C.; BALLESTEROS, F.; GARCÍA-SERRANO, A.; HERRERO, J.; NORES, C. Record de osas con crías en el occidente cantábrico. *Quercus* **2011**, *301*, 20–25.
- GROFF, C. Large carnivores report 2018. Available online: https://grandicarnivori.provincia.tn.it/content/download/14454/250967/file/Rapporto%20Grandi%20carnivori_2018_ENG.pdf (accessed on 24 June 2020)
- CHAPRON, G.; QUENETTE, P.-Y.; LEGENDRE, S.; CLOBERT, J. Which future for the French Pyrenean brown bear (*Ursus arctos*) population? An approach using stage-structured deterministic and stochastic models. *Comptes Rendus Boil.* **2003**, *326*, 174–182, doi:10.1016/s1631-0691(03)00055-6.
- RELJIĆ, S.; JERINA, K.; NILSEN, E.B.; HUBER, D.; KUSAK, J.; JONOZOVIČ, M.; LINNELL, J.D.C. Challenges for transboundary management of a European brown bear population. *Glob. Ecol. Conserv.* **2018**, *16*, e00488, doi:10.1016/j.gecco.2018.e00488.
- KROFEL, M.; JONOZOVIČ, M.; JERINA, K. Demography and mortality patterns of removed brown bears in a heavily exploited population. *Ursus* **2012**, *23*, 91–103, doi:10.2192/ursus-d-10-00013.1.
- UECKERMANN, E. Erhebung über die Wildverluste durch den Straßenverkehr und die Verkehrsunfälle durch Wild. *Eur. J. Wildl. Res.* **1964**, *10*, 142–168, doi:10.1007/bf01964867.
- FRKOVIĆ, A.R.; RUFF, L.; CIGNJAK, L.; HUBER, D. Brown bear mortality in Gorski kotar, Yugoslavia. *Int. Conf. Bear Res. Manag.* **1987**, *7*, 87–92.
- KACZENSKY, P.; KNALIER, F.; HUBER, T.; JONOSOVIC, M.; ADAMIC, M. The Ljubljana-Postojna highway—A deadly barrier for brown bears in Slovenia? *J. Wildl. Res.* **1996**, *1*, 263–267.
- HUBER, D.; KUSAK, J.; FRKOVIĆ, A. Traffic kills of brown bears in Gorski Kotar, Croatia. *Ursus* **1998**, *10*, 167–171.
- KUSAK, J.; HUBER, D.; FRKOVIĆ, A. The effects of traffic on large carnivore populations in Croatia. *Bios. Conserv.* **2000**, *3*, 35–39.
- SEILER, A.; HELLDIN, J.O.; SEILER, C. Road mortality in Swedish mammals: Results of a drivers' questionnaire. *Wildl. Boil.* **2004**, *10*, 225–233, doi:10.2981/wlb.2004.028.
- MORALES, M. Primer oso muerto en un atropello en España. 2008. Available online: https://elpais.com/sociedad/2008/10/28/actualidad/1225148405_850215.html (accessed on 22 December 2019). ■

Singularidad genética de las razas bovinas cantábricas

Luis J. Royo. Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. SERIDA. lroyo@serida.org
Rocio PELAYO. Departamento de Producción Animal. Universidad de León. rpelg@unileon.es

En este artículo se van a revisar los conocimientos disponibles hasta el momento sobre la diversidad genética de las poblaciones bovinas cantábricas. Se incluirán datos de la variabilidad genética de los genes responsables de la capa, así como de las líneas maternas y paternas. Esta información, junto con la del resto de poblaciones de la península ibérica y parte de Europa y África del Norte, permitirá evaluar la singularidad genética de las razas autóctonas bovinas cantábricas en un amplio contexto y así, desde un punto de vista técnico, argumentar la necesidad de seguir apostando por su conservación.

Antes de empezar, vamos a definir algunos conceptos técnicos que van a utilizarse a lo largo de este artículo, y que ayudaran a entenderlo mejor:

- Se llama haplotipo al conjunto de variaciones del ADN o polimorfismos, que se heredan juntos y pasan de padres a hijos sin ninguna modificación. Es decir, si lo encontramos en un individuo hay que asumir que lo ha heredado como un clon de uno de sus progenitores.
- Linaje se refiere a un conjunto o familia de haplotipos que tienen características comunes y por lo tanto están relacionados entre sí, y se asume que tienen el mismo origen filogenético.
- Introgresión es el movimiento de genes de una población a otra, como consecuencia de un proceso de cruzamiento

y retrocruzamiento. Un gen o conjunto de genes propios de una población diferente, se incorporan en la población nativa, debido a cruzamientos sucesivos, que de una manera natural no habrían tenido lugar.

¿Qué es una raza?

Una raza se puede definir como un conjunto de animales que son más parecidos entre sí que con los demás individuos de la misma especie, y que se agrupan por una serie de características comunes que son heredables. Otra definición, más relacionada con el campo de la Producción Animal, es que son un conjunto de animales que se reproducen entre sí, y que tienen un objetivo productivo común. Teniendo en cuenta que la diferenciación en razas no tiene un sólido respaldo científico, podemos decir en realidad, que un conjunto de animales conforma una raza o agrupación racial cuando las personas que ocupan determinados cargos en la administración deciden que así sea.

En el norte de la península ibérica existen reconocidas varias razas bovinas autóctonas, la mayoría del tronco castaño como las Asturianas de los Valles y de la Montaña, y cántabras Tudanca y Monchina, que son aprovechadas mayoritariamente por su aptitud cárnica. Además, existe otra raza cántabra, ésta de aptitud lechera y no perteneciente al tronco castaño, la raza Pásiega. Todas, excepto la Asturiana de los Valles, considerada como raza Autóctona

de Fomento, están incluidas en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado en el Grupo de Razas Autóctonas en Peligro de Extinción. Existe mucho debate acerca de qué es una raza autóctona y cuando puede merecer la pena o no su conservación por el mero hecho de serlo.

La FAO (<http://www.fao.org/home/es/>) se apoya en cuatro argumentos para justificar el estudio y conservación de las razas autóctonas, que son:

- El económico; hay que tener en cuenta que el pasado y presente de la demanda comercial no son siempre una buena guía para predecir futuras necesidades sociales, y en algún momento estas razas autóctonas pueden ser necesarias.
- El científico; se pueden conseguir avances científicos por el estudio de animales domésticos primitivos. Además, cuando una raza se extingue, una combinación única de genes desaparece, con muy escasa probabilidad de recuperar.
- El histórico o cultural; la distribución y características de algunas razas puede ser importante como marcador en estudios antropológicos y en estudios de geografía histórica.
- El ecológico o ambiental; las razas locales ayudan a la conservación de los recursos naturales por su interacción con el medio, prestando a la vez atención al espacio rural y al mantenimiento del ecosistema.

Además de estas razones generales para conservar una raza, existen otras más concretas. Generalmente estas razas no ocupan superficies utilizables para otras alternativas agrarias, y se alimentan en superficies de pastos naturales que abonan, con lo que no establecen competencia en la alimentación con la especie humana. Su manejo, fundamentalmente en extensivo, facilita la realización de otras actividades cotidianas, lo que es bastante importante en el espacio rural. Por su sistema de producción, de estas razas autóctonas se suelen obtener productos agroalimentarios con valor añadido

y de mayor calidad. Sin embargo, ninguna de estas razones es suficiente si no existe detrás una asociación de criadores especialmente activa y comprometida.

La herramienta fundamental para la conservación y gestión de las poblaciones locales en peligro de extinción es el Libro Genealógico. El Libro Genealógico aglutina y organiza toda la información de los animales inscritos, sus ascendientes y sus descendientes. Esta información viene de dos disciplinas de la genética. La primera es la conocida como genética de poblaciones, que consiste en el uso de la información de parentesco y demográfica, con el fin de asegurar la representación de los genes (o individuos) fundadores en la población, y también minimizar el incremento de la consanguinidad. La segunda disciplina es la llamada genética molecular, que se basa en la tecnología del ADN, y estudia, entre otros, los marcadores moleculares. La genética molecular permite obtener información adicional al Libro Genealógico como puede ser la identificación de individuos portadores de caracteres recesivos, y resolver errores de filiación. Además, permite estimar la consanguinidad real de las poblaciones, así como la posibilidad de asignar o excluir nuevos individuos al Libro Genealógico de la raza.

En el estudio de las razas autóctonas locales, si se quieren sacar conclusiones realistas, de nada sirven los resultados aislados. Es decir, es fundamental enmarcarlos tanto en un contexto regional con las razas de su alrededor, como a nivel de la península ibérica, europeo e incluso mundial.

Variabilidad genética de los genes responsables del color de la capa

Uno de los marcadores más evidente en la diferenciación de las razas es el del color de la capa, de tal forma que muchas razas llevan el tipo de capa en su nombre, como por ejemplo las razas Berrenda en Negro o en Colorado, Blanca Cacereña, Parda, Retinta y muchas otras más. Del mismo modo hay razas que son conocidas por tener una capa característica, como ocurre con la Morucha y su capa cárdena, la capa negra bociblanca de la Avileña, o las capas hosca y tasuga de la Tudanca.



Color capa	MC1R	
Negro	E ^D /-	
Retinto/Blanco	e/e	
Castaña	E ⁺ ,1,2/E ⁺ ,1,2	E ⁺ ,1,2/e
Gris	E ⁺ ,1,2/E ⁺ ,1,2	E ⁺ ,1,2/e

El color básico de la capa está determinado por dos genes: MC1R (receptor de melanocortina 1) y ASIP (*Agouti-signaling protein*). Las combinaciones de las variantes genéticas de estos genes, producen los colores típicos de las capas de los bovinos (Tabla 1). Las razas autóctonas cantábricas se caracterizan porque son de capa castaña, si exceptuamos la Pasiega. La capa castaña se caracteriza por tener el alelo salvaje en el gen MC1R, siendo tres los alelos posibles en este fenotipo, los alelos E⁺, E¹ y E².

En un trabajo previo y con el fin de identificar si estos alelos del gen MC1R, o bien

secuencias diferentes en el gen ASIP, son responsables de las variaciones de tonalidad dentro de la capa castaña, se genotiparon 277 individuos para el gen MC1R pertenecientes a siete razas autóctonas españolas de capa castaña: Asturiana de los Valles, Asturiana de la Montaña, Sayaguesa, Pajuna, Parda Alpina, Negra Serrana y Tudanca, tres francesas: Tarantaise, Parthenaise y Normande y cuatro italianas: Piamontes, Marchigiana, Maremmana y Chianina. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Se puede destacar la presencia, aunque en baja proporción, del alelo e, responsable en homocigosis de la capa

←
Tabla 1.- Genotipos del gen MC1R y colores de capa que determina.

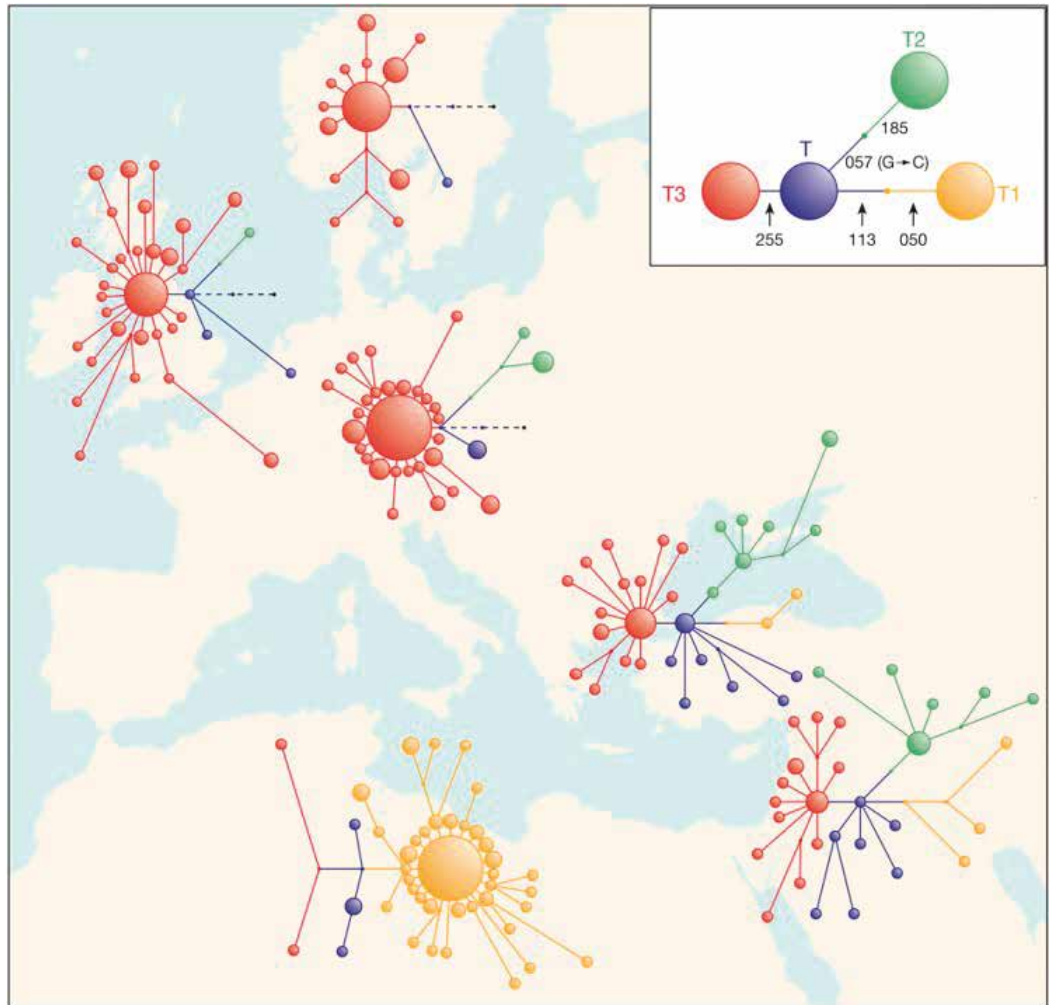
↓
Tabla 2.- Frecuencias alélicas del gen MC1R en algunas razas autóctonas españolas, francesas e italianas. Adaptado de Tabla 1 de Royo et al., (2005) y Tabla 2 de Royo et al., (2004).

Razas	Frecuencias alélicas				
	N	E ⁺	E ¹	E ²	e
Asturiana de los Valles	64	12,9	12,9	70,2	4
Asturiana de la Montaña	35	8,3	4,2	84,7	2,8
Pajuna	30	40	5	50	5
Parda Alpina	18	72,2	19,5	8,3	-
Tudanca	36	-	-	100	-
Sayaguesa	7	64,3	7,1	28,6	-
Negra Serrana	19	92,1	7,9	-	-
Parthenaise	16	50	50	-	-
Tarantaise	16	6,3	87,4	6,3	-
Normande	16	100	-	-	-
Piamontes	5	-	-	100	
Marchigiana	5	-	-	100	
Maremmana	5	-	-	100	
Chianina	5	40	-	20	40



→

Figura 1.- Linajes de ADN mitocondrial de los bóvidos domésticos, y localización geográfica sobre un mapa de Europa, norte de África y Oriente Próximo (Copiada de Figura 2 de Troy et al., 2001). Cada círculo se corresponde con un haplotipo diferentes, siendo su tamaño proporcional a la frecuencia de ese haplotipo. En Oriente Medio se observan todos los linajes, por lo que se le supone como origen de la domesticación.



roja en varias razas castañas, que suele ser reflejo de introgresión de ganado frisón. El alelo E^2 fue el más frecuente en las razas españolas, excepto la Parda Alpina, la Sayaguesa y Negra Serrana, en la que el alelo más frecuente fue el E^+ , al igual que en las italianas. En las razas francesas castañas en cambio, este alelo E^2 prácticamente no existe (Royo et al., 2005). Además, hay que destacar el alto porcentaje del alelo E^2 en las razas Tudanca y Asturiana de la Montaña. Como conclusión podemos decir que ha podido haber una introgresión en las razas locales a partir del ganado frisón, que explicaría la presencia del alelo e , quedando libre de ello las razas Parda Alpina y Tudanca. El alelo E^2 parece el alelo propio de las razas castañas españolas e italianas, lo que indicaría que las razas Asturiana de la Montaña y sobre todo la Tudanca, son las que menor porcentaje de introgresión han sufrido.

Líneas maternas del ganado bovino

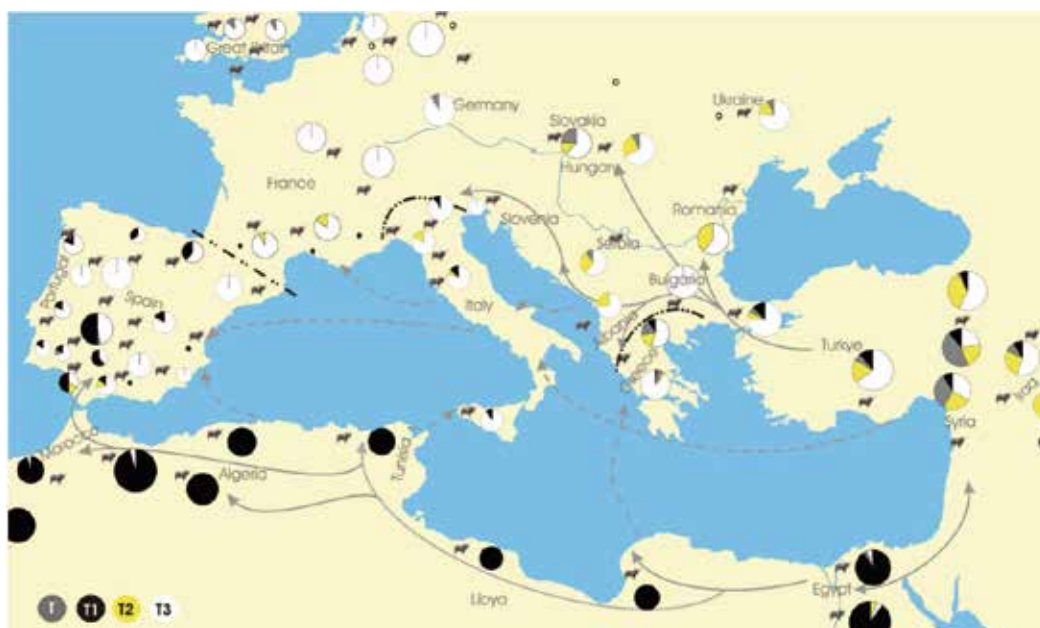
Además del estudio de los genes responsables del color de la capa, se puede estudiar el polimorfismo de otros marcadores genéticos para inferir las relaciones filogenéticas entre poblaciones de animales. Uno de los más utilizados es la secuenciación del ADN mitocondrial, que permite el estudio de las relaciones genéticas entre poblaciones por la vía materna. El primer estudio importante de la filogeografía de los bovinos incluía muestras de ADN de 392 bovinos actuales de Europa, África y Oriente Próximo, y cinco muestras más de ADN de restos antiguos de uros de Inglaterra (Troy et al., 2001). Se encontraron tres linajes maternos principales: T1 (amarillo), T2 (verde) y T3 (rojo), y un linaje central T (azul) del que divergen. La forma de estrella de los haplotipos de estos linajes maternos indica que

son ancestrales y es consistente con una expansión de poblaciones. Además, tienen una estructura geográfica, en la zona del origen de la domesticación, Oriente Medio, y en Anatolia estaban presentes todos los linajes, aumentando la frecuencia del linaje T3 según se avanza hacia Europa, y del linaje T1 hacia África, donde es casi exclusivo (Figura 1). Como conclusión principal de este trabajo se puede decir que el origen de domesticación de los bóvidos se localizaría en Oriente Medio desde donde se expandieron linajes diferentes hacia Europa (T3) y África (T1).

Sin embargo, este trabajo tenía varios problemas. En primer lugar, no se utilizaron muestras de la península ibérica, que, por su localización geográfica, es un lugar de contacto de las poblaciones de Europa y África, de estudio imprescindible para testar la expansión de los diferentes linajes. Además, hay que tener en cuenta que, durante la expansión neolítica, el mar mediterráneo tuvo una gran importancia y por lo tanto es necesario estudiar también la influencia del ganado del norte de África en el sur de Europa.

Otro aspecto importante es que el uro salvaje y el ganado doméstico han convivido durante mucho tiempo, ya que se extinguió hace apenas 400 años, con lo que parece escaso el estudio solo de muestras de uros

de las islas británicas. Todo ello, implica que es necesario evaluar la hipótesis de un solo origen de la domesticación de los bóvidos surgida de este estudio. Para ello, en el siguiente trabajo, se estudiaron muestras de ganado doméstico de toda Europa, desde las islas británicas hasta las penínsulas ibérica, itálica, balcánica, y todo el Mediterráneo incluyendo la península de Anatolia y la costa oriental y norteafricana del mediterráneo (Beja-Pereira et al., 2006). En la Figura 2 se puede ver la distribución de linajes maternos representados en un mapa. Cada círculo es una población o raza diferente, en cuyo interior hay mayor porcentaje de uno u otro color, dependiendo del porcentaje de animales portadores de cada uno de los cuatro linajes: T1-negro, T2-amarillo, T3-blanco y T-gris. Como se puede apreciar, la mayoría de haplotipos en el norte de Europa son T3 (blanco), mientras que en África la inmensa mayoría son T1 (negro), confirmando lo que se sabía hasta el momento. Como se puede ver en la Figura 2, en la península ibérica se encontraron todos los linajes descritos, dando idea de la gran variabilidad genética existente en nuestras razas domésticas. En concreto en las razas cantábricas se encontraron de forma mayoritaria los linajes T1 y T3. Este trabajo demostró por un lado el papel importante del Mediterráneo en las relaciones entre las razas, encontrándose presente el linaje típico africano, en una frecuencia del 5% y



←
Figura 2.- Distribución de linajes de ADN mitocondrial por todo el Mediterráneo, y norte de Europa (Figura 2 de Beja-Pereira et al., 2006).

hasta del 30% en razas del sur de Europa; y por otro que la hipótesis de un solo origen de domesticación de los bóvidos europeos quizás sea demasiado simplista.

Trabajos sucesivos y tras el análisis de más y más muestras, se fueron identificando nuevos linajes en el ADN mitocondrial de los bóvidos europeos. Lira, (2010) en una revisión de los estudios más relevantes que se han llevado a cabo sobre el origen de la domesticación del ganado vacuno a partir de los análisis genéticos, representó en un mapa todos los linajes maternos identificados hasta el momento, desde los más frecuentes (T1-amarillo, T3-rojo) hasta los más minoritarios (Q-marrón, AA-negro, por ejemplo) (Figura 3). Como podemos ver, en la península ibérica encontramos prácticamente todos los linajes (todos los colores), habiendo una diversidad solo comparable con Oriente Medio (lugar propuesto como origen de la domesticación de los bóvidos), señalando la península ibérica como una zona estratégica entre Europa y África, donde se encuentra una gran diversidad genética del ADN mitocondrial. Incluso se

podría pensar que es algo más que una zona de contacto, ya que contiene linajes maternos que podrán ser propios, ya que no se han encontrado hasta el momento en otras zonas estudiadas. Sin embargo, no existe una estructura geográfica, y en todas las razas estudiadas encontramos varios linajes maternos distintos, y todas las razas comparten algún linaje, con lo que las claras diferencias morfológicas que se ven entre las diferentes razas no pueden ser atribuidas a diferencias en las líneas maternas.

Este hecho, es el mismo que se observa en los caballos de la península ibérica, donde las diferencias evidentes entre las razas de caballos del sur y las del norte (ponis de tipo céltico), no se reflejan en el ADN mitocondrial, explicándose esta diferenciación con un fenómeno de introgresión vía macho (Royo et al., 2005). Es decir, sobre una población de hembras que serían muy parecidas entre sí, se utilizaron machos diferentes según la localización geográfica. Cruce tras cruce, estos machos foráneos, impondrían sus genes, y por tanto su morfología en estas poblaciones de caballos del

→

Figura 3.- Representación de los linajes maternos identificados en ganado doméstico bovino (Figura 3 de Lira, 2010).



norte y sur de la península. Sin embargo, esta hipótesis no ha podido ser demostrada, al conocerse muy pocos polimorfismos en las líneas paternas (cromosoma Y) de los équidos (Lindgren et al., 2004). En el caso de los bóvidos, el estudio de los polimorfismos en el cromosoma Y si ha sido objeto de mayor estudio, existiendo publicaciones científicas que pueden ayudarnos a entender la filogeografía de las poblaciones domésticas del vacuno.

Líneas paternas del ganado bovino

En el primer estudio sobre el cromosoma Y bovino (Götherström et al., 2005) se utilizaron muestras de machos de razas europeas, pero también algunas muestras de uros salvajes, y se identificaron dos linajes paternos, que se llamaron Y1 e Y2. Además, estos linajes paternos, tenían una fuerte estructura geográfica: el linaje Y1 estaba presente en los animales domésticos del norte de Europa y era más parecido al de los uros, y en cambio, el linaje Y2 estaba en mayor frecuencia en el sur de Europa y era más parecido al encontrado en el supuesto origen de domesticación. Los autores explicaban esta estructura geográfica de los linajes paternos, como el resultado de un bajo número de machos domesticados (Y2), y una sustitución de este linaje paterno por introgresión de uros salvajes (Y1) que habría tenido lugar sobre todo en la zona del norte de Europa.

Pero estos trabajos iniciales, aunque de mucho interés, muchas veces no cuentan con un muestreo suficientemente amplio, como ya se ha visto que ocurría en los estudios de ADN mitocondrial, con lo que es necesario testar las hipótesis que propone, añadiendo muchas más muestras de muchas más localizaciones y razas diferentes. En el SERIDA estamos interesados en el estudio de las razas autóctonas asturianas y las relaciones con las razas de su entorno, por ello durante unos años estudiamos la filogeografía de las líneas paternas de los bovinos de la península ibérica. Estos trabajos permitieron ratificar la estructura geográfica de las líneas paternas de los bovinos en Europa con la existencia de dos linajes, Y1 predominante en el norte e Y2 con mayor presencia en el sur de Europa, coexistiendo las dos familias en las diferentes razas de la península ibérica. Además, fruto de estos trabajos se identificaron una serie de haplotipos exclusivos del continente africano (Pérez-Pardal et al., 2010).

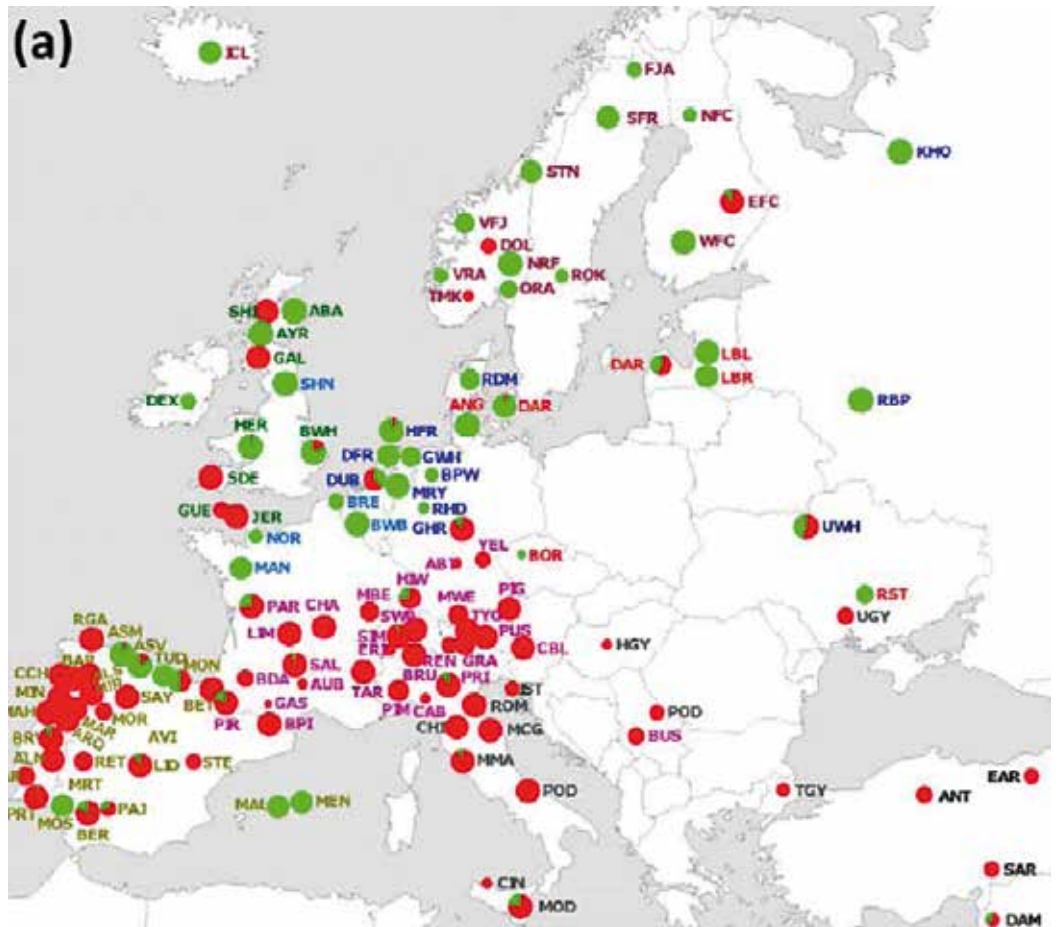
En las razas cantábricas sorprendía el alto porcentaje de linajes Y1, que no podía ser explicado simplemente por el hecho de introgresión de razas europeas, como pudiera ser la de la frisona buscando el aumento de la producción de leche en algunas razas (Asturiana de los Valles, ver Figura 4). La distribución global de los dos linajes descritos Y1 e Y2 en Europa puede



←
Figura 4.- Lote de terneros culones asturianos embarcados para Chile a mediados del siglo XX (CENSYRA-Somió). Se pueden ver las diferencias de capa en los animales, presentando alguno de ellos capas berrendas típicas del frisón. La presencia del carácter culón típico de la Asturiana de los Valles, ya se evidencia en todos ellos.

→

Figura 5.- Representación de los linajes paternos identificados en el ganado doméstico bovino (Figura 1a de (Edwards et al., 2011). Sorprende el alto porcentaje de linajes Y1 (verde) en la zona de la cornisa cantábrica.



verse en la Figura 5 (Figura 1a de Edwards et al., 2011), donde se representa en verde al linaje Y1 y en rojo al Y2. Se puede observar como en las razas estudiadas de la cornisa cantábrica (Asturiana de los Valles, Asturiana de la Montaña, Tudanca y Monchina) hay una presencia alta de linajes Y1 (verde). Buscar

un porqué y discernir las características del cromosoma Y de las razas cantábricas fue nuestro siguiente objetivo.

Para responder a esta cuestión es necesario bien mejorar el muestreo, o bien aumentar el número de marcadores. En nuestro caso se hizo un esfuerzo para hacer las dos cosas. Por un lado, se llevó a cabo un muestreo exhaustivo de machos de razas autóctonas españolas, sobre todo en aquellas razas que estaban menos representadas, y por otro, se buscaron e identificaron nuevos polimorfismos en las secuencias del cromosoma Y bovino. Se analizaron 1507 machos de razas o poblaciones de España, Europa y África con los marcadores descritos hasta el momento más algún otro SNP nunca antes utilizado. Este análisis permitió identificar una nueva familia de linajes diferente a los dos descritos anteriormente, y que, además, solo está presente en la península ibérica (Pelayo et al., 2017). A este linaje se le llamó Y1.2, está presente en las razas cantábricas, pero

→

Figura 6.- Distribución y localización en la península ibérica de los linajes del cromosoma Y descritos hasta el momento. En verde haplotipos Y1, en rojo haplotipos Y2 y en azul haplotipos Y1.2. Cada población es un círculo con diferentes colores que son proporcionales a la frecuencia de linajes identificados en cada una de ellas.



también en otras razas autóctonas españolas, es decir, está presente en España de norte a sur (Figura 6). Si nos fijamos en la figura, todos los machos de la raza Tudanca pertenecen a este linaje, aunque aún quedan linajes Y1 (verde) en las razas de la cordillera cantábrica, fundamentalmente en las razas asturianas. Además, alguno de estos haplotipos paternos está presente solo en razas cantábricas y valdría la pena poder analizar mejor, buscando nuevos polimorfismos en la secuencia del cromosoma Y de estos animales, que quizá permitieran identificar nuevas familias de linajes ibéricos o incluso cantábricos.

Conclusiones

Hay evidencias de una gran diversidad genética en las poblaciones de la península ibérica tanto en las líneas maternas (ADN mitocondrial) como paternas (cromosoma Y). Esta diversidad a menudo ha sido justificada por la especial historia de la zona, lugar de múltiples asentamientos y migraciones humanas de Centro Europa, Oriente Próximo y Norte de África, pero también con evidencias de posibles introgresiones de uros salvajes. Sin embargo, estos resultados que han sido revisados, señalan a la península ibérica como algo más que un punto de contacto entre dos mundos, y refuerzan la importancia de las razas de la península ibérica como reservorio de diversidad genética mundial, ocupando entre ellas un lugar destacado las razas cantábricas.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por el Principado de Asturias, PCTI 2018-2020 (GRUPIN:IDI2018-000237 y FEDER).

Referencias

- BEJA-PEREIRA, A., CARAMELLI, D., LALUEZA-FOX, C., VERNESI, C., FERRAND, N., CASOLI, A., GOYACHE, F., ROYO, L.J., CONTI, S., LARI, M., 2006. The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 8113–8118.
- EDWARDS, C.J., GINJA, C., KANTANEN, J., PÉREZ-PARDAL, L., TRESSET, A., STOCK, F., GAMA, L.T., PENEDO, M.C.T., BRADLEY, D.G., LENSTRA, J.A., 2011. Dual origins of dairy cattle farming—evidence from a comprehensive survey of European Y-chromosomal variation. *PLoS One* 6, e15922.
- GÖTHERSTRÖM, A., ANDERUNG, C., HELLBORG, L., ELBURG, R., SMITH, C., BRADLEY, D.G., ELLEGREN, H., 2005. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 272, 2345–2351.
- LINDGREN, G., BACKSTRÖM, N., SWINBURNE, J., HELLBORG, L., EINARSSON, A., SANDBERG, K., COTHRAN, G., VILÀ, C., BINNS, M., ELLEGREN, H., 2004. Limited number of patrilineages in horse domestication. *Nat. Genet.* 36, 335–336.
- LIRA, J., 2010. Revisión sobre la genética del origen del ganado vacuno y las aportaciones del ADN antiguo. *Munibe Antropol.* 61, 153–170.
- PELAYO, R., PENEDO, M.C.T., VALERA, M., MOLINA, A., MILLON, L., GINJA, C., ROYO, L.J., 2017. Identification of a new Y chromosome haplogroup in Spanish native cattle. *Anim. Genet.* 48. <https://doi.org/10.1111/age.12549>
- PÉREZ-PARDAL, L., ROYO, L.J., BEJA-PEREIRA, A., ČURIK, I., TRAORÉ, A., FERNÁNDEZ, I., SÖLKNER, J., ALONSO, J., ÁLVAREZ, I., BOZZI, R., 2010. Y-specific microsatellites reveal an African subfamily in taurine (*Bos taurus*) cattle. *Anim. Genet.* 41, 232–241.
- ROYO, L.J., ÁLVAREZ, I., FERNÁNDEZ, I., ARRANZ, J.J., GÓMEZ, E., GOYACHE, F., 2005. The coding sequence of the ASIP gene is identical in nine wild-type coloured cattle breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 122, 357–360. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2005.00541.x>
- ROYO, L.J., FERNÁNDEZ, I., ÁLVAREZ, I., RODRÍGUEZ, A., GOYACHE, F., 2004. Revisión sobre la herencia de color de la capa en el ganado bovino. *ITEA. Prod. Anim.* 100, 17–29.
- TROY, C.S., MACHUGH, D.E., BAILEY, J.F., MAGEE, D.A., LOFTUS, R.T., CUNNINGHAM, P., CHAMBERLAIN, A.T., SYKES, B.C., BRADLEY, D.G., 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* 410, 1088–1091. ■

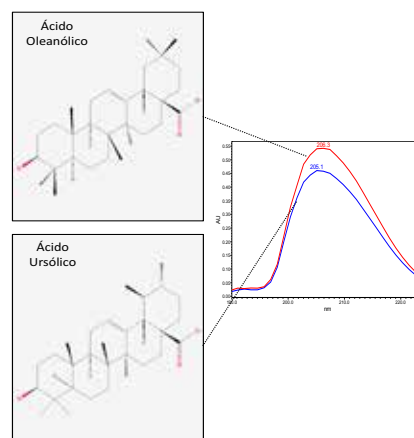
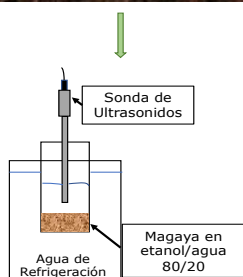
La magaya de la actividad sidrera: fuente de compuestos bioactivos de elevado interés

Ácidos triterpénicos

ANNA PICCINELLI LOBO. Área de Tecnología de los Alimentos. apicinelli@serida.org

AMADA GARITAS-BULLÓN. Alumna del Máster en Biotecnología Aplicada a la Conservación y Gestión Sostenible de Recursos Vegetales, Facultad de Biología. Universidad de Oviedo.

BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org



Introducción

Se denomina *magaya* al residuo del prensado de la manzana, constituido por pulpa, pieles, pepitas y pedúnculos. La industria de elaboración de sidra genera cada año en Asturias entre 9.000 y 12.000 toneladas de magayas, destinadas en su mayor parte a la alimentación del ganado o desecho. Sin embargo, este material es una fuente de compuestos de alto valor nutricional y farmacológico, cuya recuperación y aprovechamiento se encuadra dentro de las tendencias actuales para el fomento de una producción de alimentos más sostenible y respetuosa con el medio ambiente.

Algunos estudios realizados en Asturias han mostrado la versatilidad de las magayas para la elaboración de aguardientes o como ingrediente de productos libres de gluten (Rodríguez Madrera, et al., 2013; Rodríguez Madrera & Suárez Valles, 2019), así como su potencial como materia prima para la obtención de polifenoles de bajo peso molecular, un grupo de compuestos de alto valor como antioxidantes y antivirales (Diñeiro García et al., 2009; Suárez et al., 2010).

Otra familia de compuestos presentes en las magayas son los ácidos triterpénicos, entre los que destacan el ácido ursólico y su isó-

mero, el ácido oleanólico. Ambas moléculas se encuentran ampliamente distribuidas en las plantas, formando parte de las ceras que recubren hojas y frutos, donde ejercen funciones de barrera frente a la pérdida de agua o a la entrada de patógenos. Estos ácidos tienen multitud de acciones farmacológicas: hepato-protectora, antitumoral, antibacteriana, antiinflamatoria, analgésica, y otras propiedades beneficiosas asociadas con la prevención de la diabetes (Cargnin & Gnoatto, 2017; Pollier & Goosens, 2012).

Entre los objetivos generales del proyecto coordinado RTA2015-000-60-CO4, en el que participa el SERIDA entre otros 6 organismos de investigación, se encuentra la caracterización de subproductos de la industria agroalimentaria y la optimización de técnicas de extracción que permitan la recuperación de los compuestos bioactivos de una forma rápida y eficiente, como primera etapa dentro de una estrategia global de residuo cero.

La extracción asistida por ultrasonidos de potencia es una técnica basada en la aplicación de una energía asociada al sonido de baja frecuencia (16-100kHz). Su efectividad está asociada con el fenómeno de *cavitación*, que consiste en la formación de micro-burbujas, su crecimiento e implosión durante la propagación de la onda de ultrasonidos en el medio de extracción. Este fenómeno genera una gran energía, lo que permite romper eficazmente los tejidos celulares, y con ello, la penetración del disolvente y la transferencia de masa. Comparada con otras técnicas convencionales, la utilización de ultrasonidos de alta potencia permite incrementar el rendimiento de extracción utilizando disolventes como agua o mezclas de agua y etanol, claramente menos dañinos para el medio ambiente.

Experimental

1. Características y acondicionamiento de las muestras

Se analizaron 9 magayas procedentes de la industria sidrera, cuyas características generales se resumen en la Tabla 1. Estas magayas fueron secadas a 60°C durante 48 horas, molidas y tamizadas a un tamaño de 0,5µm.

Referencias	Tipo de prensa	Tiempo de prensado (horas)
N4	Neumática	8
N5		
N6		
T10	Tradicional	48
T11		24
PH12	Horizontal del Pistón	1,5 ¹
PH13		1,5
PH14		1,5 ²
PH15		1,5

(1): Tratamiento enzimático después del prensado.

(2): Maceración previa (tiempo total de tratamiento, 24 h).

2. Extracción de ácidos triterpénicos

Se utilizó un equipo de ultrasonidos (UP200Ht 200W, 26kHz de Hielshcher Ultrasound Power, REM, Asturias, España) provisto de una sonda de 2mm. Las muestras de magaya (1,0 g) se sometieron a extracción en tubos de centrifuga con 20mL de una mezcla de etanol/agua (80/20), a 30°C durante 15 minutos, aplicando una Amplitud del 100%. Se centrifuga (10min, 10°C, 17.000G) y el sobrenadante se filtra (PVDF 0,45µm, Teknokroma, Barcelona, España) para su análisis.

3. Análisis cromatográfico

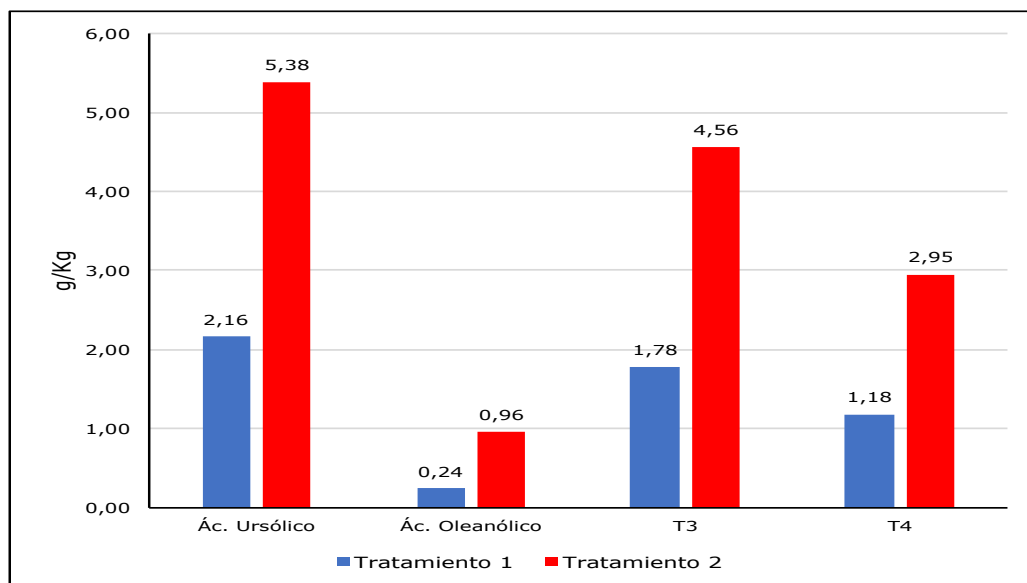
Los ácidos triterpénicos fueron separados por HPLC en una columna C18 (Nucleosil C120, 250 x 4.5mm; 3µm, de Marcherrey-Nagel, Panreac, Barcelona, España), a 30°C, en modo isocrático (0,80 mL/min) utilizando una mezcla de Metanol/Ácido acético al 2% en agua (90/10), y un detector de fotodiodos (longitud de onda, 210 nm). Se identificaron frente a los correspondientes patrones comerciales los ácidos ursólico y oleanólico, analizándose adicionalmente otros cinco compuestos con características espectrales idénticas, denominados T1-T5. La cuantificación se realizó a partir de calibraciones externas, utilizando como estándares los ácidos ursólico y oleanólico.



Tabla 1.- Referencias de magayas mezclas de manzanas asturianas obtenidas de la actividad sidrera.

→

Figura 1.- Efecto de la aplicación de ultrasonidos de potencia para la extracción de ácidos triterpénicos de magayas. Tratamiento 1: agitación magnética a 500 rpm durante 24 horas a temperatura ambiente; Tratamiento 2: ultrasonidos de potencia, 15 minutos, 30°C.



Los componentes T1-T5 se determinaron como ursólico.

Resultados

En la Figura 1 se ilustra el rendimiento de extracción de los ácidos triterpénicos mayoritarios proporcionado por la técnica de extracción asistida por ultrasonidos con respecto a la maceración con agitación magnética a 500 revoluciones por minuto durante 24 horas. En ambos tratamientos, se utilizó una mezcla de etanol en agua al 80%. Los datos indican incrementos considerables, de hasta el 300% en el caso del ácido oleanólico.

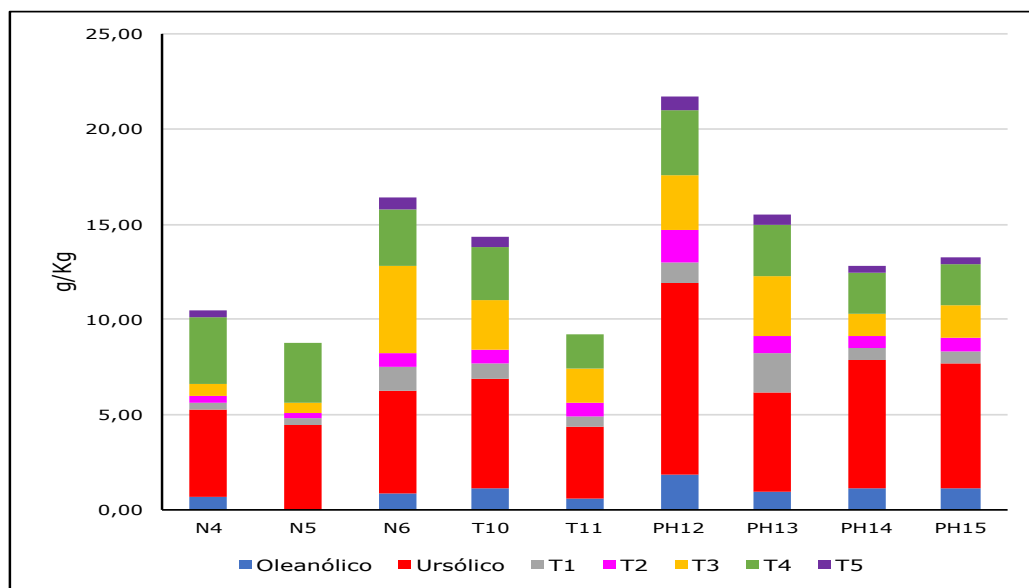
En la Figura 2 se ilustran los contenidos de ácidos triterpénicos encontrados en magayas procedentes de la industria sidrera. El rango de concentraciones observados en estas muestras varió entre 8,78 g/Kg de la referencia N5 y 21,67 g/Kg de la magaya PH12, lo que demuestra el potencial de este subproducto para la obtención de ácidos triterpénicos. El ácido ursólico, con un rango de variación comprendido entre 3,80 y 10,10 g/Kg, fue el componente mayoritario, seguido por los compuestos T4 (entre 1,78 y 3,51 g/Kg) y T3 (entre 0,54 y 4,57 g/Kg). El ácido T5 no fue encontrado en las magayas N5 y T11.

Comparando nuestros resultados con los datos publicados es preciso tener en cuenta que, a diferencia de la metodología utiliza-

da en nuestro caso, en la mayoría de los estudios consultados los análisis han sido realizados en la piel de la manzana, lo cual implica un cierto grado de pre-concentración de los ácidos triterpénicos. Los valores encontrados en las magayas de la actividad sidrera fueron superiores a los descritos por Andre et al. (2012) en 109 cultivares de manzana tradicionales. Los contenidos de ácidos triterpénicos dependen de la variedad de manzana, posiblemente asociados al grosor de la piel, de la exposición al sol y de las condiciones ambientales.

Además de los factores citados, el proceso de elaboración de zumos o sidras influye también sobre la concentración de estos componentes. Woźniak et al. (2018) optimizaron las condiciones de recuperación de ácidos triterpénicos mediante extracción supercrítica con CO₂ (80°C y 30MPa de presión) a partir de los restos de prensado de un productor local de zumos de manzana en Polonia. En su caso, la concentración total de ácidos obtenida fue de 9,59 g/Kg, un valor ligeramente inferior a los observados en nuestras muestras.

En conclusión, la eficacia y simplicidad de la técnica de extracción asistida por ultrasonidos de potencia nos permite recuperar compuestos de alto valor farmacológico, como los ácidos triterpénicos, presentes en magayas en cantidades importantes. Esta técnica es claramente superior a otras más convencionales, como la maceración



←
Figura 2.- Concentración de ácidos triterpénicos en magayas de mezclas asturianas y diferentes sistemas de prensado.

con un disolvente, y cuyo escalado a nivel industrial es posible (Viot et al., 2010).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA RTA2015-000-60-CO4) y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

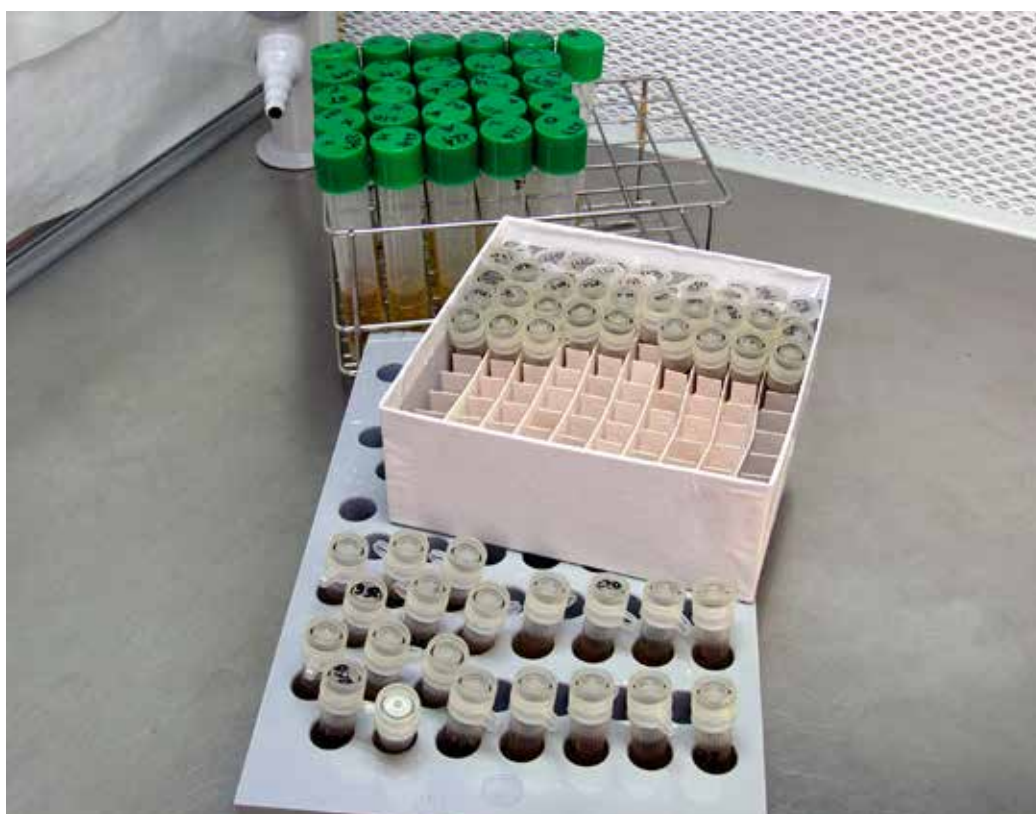
Referencias bibliográficas

- ANDRE, C.M., GREENWOOD, J.M., WALKER, E.G., RASSAM, M., SULLIVAN, M., EVERS, D., PERRY, N.B. & LAING, W.A. (2012). Anti-inflammatory procyanidins and triterpenes in 109 apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 10546-10554.
- CARGNIN, S. T. & GNOATTO, S. B. (2017). Ursolic acid from apple pomace and traditional plants: A valuable triterpenoid with functional properties. *Food Chemistry*, 220, 477-489.
- DIÑEIRO GARCÍA, Y., SUÁREZ VALLES, B. & PICINELLI LOBO, A. (2009). Phenolic and antioxidant composition of by-products from the cider industry: Apple pomace. *Food Chemistry* 117, 731-738.
- POLLIER, J. & GOOSENS, A. (2012). Oleanolic acid. *Phytochemistry* 77, 10-15.
- RODRÍGUEZ MADRERA, R., PANDO BEDRIÑANA, R., GARCÍA HEVIA, A. & SUÁREZ VALLES, B. (2013). Production of spirits from dry apple pomace and selected yeasts. *Food and Bioproducts Processing* 91, 623-631.
- RODRÍGUEZ MADRERA, R. & SUÁREZ VALLES, B. (2019). Elaboración de productos sin gluten enriquecidos con magaya. www.serida.org
- SUÁREZ VALLES, B., ÁLVAREZ, Á. L., DIÑEIRO GARCÍA, Y., DEL BARRIO, G. PICINELLI LOBO, A. & PARRA, F. (2010). Phenolic profiles, antioxidant activity and in vitro antiviral properties of apple pomace. *Food Chemistry*, 120, 339-342.
- VIROT, M., TOMAO, V., LE BOURVELLEC, C., RENARD, C.M.C.G., & CHEMAT, F. (2010). Towards the industrial production of antioxidants from food processing by-products with ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry* 17, 1066-1074.
- WOŹNIAK, Ł., SZAKIEL, A., PAĆZKOWSKI, C., MARSZAŁEK, K., SKAŃSKA, S., KOWALSKA, H., JĘDRZEJCZAK, R. (2018). Extraction of Triterpenic Acids and Phytosterols from Apple Pomace with Supercritical Carbon Dioxide: Impact of Process Parameters, Modelling of Kinetics, and Scaling-Up Study. *Molecules*, 23(11), 2790. ■



Hazme visible para ser rentable

ROSA PANDO BEDRIÑA. Área de Tecnología de los Alimentos. rpando@serida.org
 BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org
 ROSA AZNAR NOVELLA. Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo. direccion@cect.org



El Convenio de las Naciones Unidas sobre la Diversidad Biológica (<https://www.cbd.int/convention/>) reconoce que la conservación de la biodiversidad es un interés común, está estrechamente ligada al desarrollo, la salud y el bienestar de las personas y constituye una de las bases del desarrollo social y económico. La biodiversidad para la Alimentación y la Agricultura incluye los recursos genéticos forestales, fitogenéticos, zoogenéticos y microbianos que contribuyen a la producción agrícola y alimentaria. De entre éstos, los recursos microbianos poseen una variabilidad genética que les confiere una reserva de adaptabilidad a

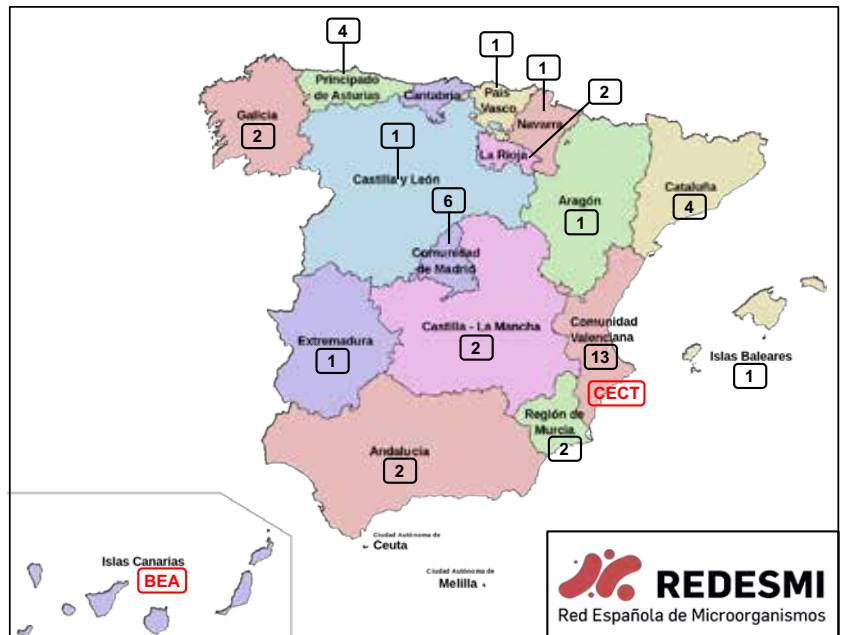
las condiciones de producción, por lo que constituyen un alto valor estratégico para la producción agrícola y alimentaria.

En España existen diversas colecciones de microorganismos que preservan la biodiversidad microbiana de determinadas áreas geográficas o procesos mediante conservación "ex situ". En sintonía con otras actividades europeas y mundiales sobre recursos genéticos microbianos, en el año 2015 se constituye la Red Española de Microorganismos (REDESMI). Dicha Red surge a iniciativa de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) y está avalada por el Instituto

Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). REDESMI tiene como objetivos: mapear las colecciones de recursos microbianos conservados en España, conectar a los investigadores e instituciones que los albergan, compartir las buenas prácticas de gestión, caracterización y conservación de cepas, y generar una base de datos de cepas con alto valor añadido (Rodrigo-Torres y cols. 2019). En la actualidad la Red está constituida por 43 colecciones de investigación y dos colecciones públicas (CECT, Colección Española de Cultivos Tipo y BEA, Banco Español de Algas), pertenecientes a 15 Comunidades Autónomas. Sólo las colecciones de investigación conservan más de 90.000 cepas de arqueas, bacterias, hongos filamentosos, levaduras, microalgas y bacteriófagos (Figura 1). La información sobre los recursos microbianos, su procedencia y el grupo que ha generado cada una de las colecciones se puede consultar en <https://www.microbiospain.org/colecciones-geograficamente/>.

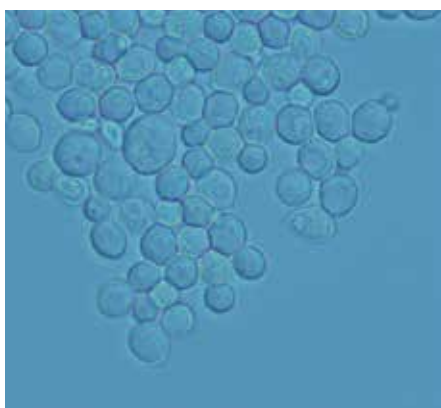
Colección de Cultivos Autóctonos del SERIDA

Una de las colecciones integrada en REDESMI es la Colección de Cultivos Autóctonos del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (CCAS). Desde sus orígenes, en la década de los 80, ha tenido como objetivo general la conservación de los recursos genéticos microbianos autóctonos implicados en las principales transformaciones que se producen durante la elaboración de sidra: la fermentación alcohólica y la transformación maloláctica (Figura 2).

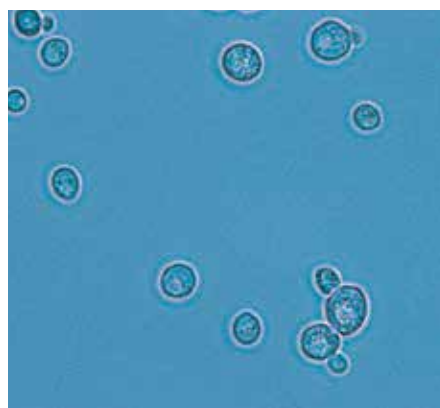


La CCAS es una colección en continua expansión que alberga en la actualidad aproximadamente unos 3.000 aislados, representativos de las zonas geográficas asturianas con mayor producción de sidra natural y de las principales alteraciones encontradas en sidra. Sucesivos proyectos de investigación han permitido, por un lado, conocer las características de interés biotecnológico de gran parte de estos recursos, y por otro, la identificación taxonómica de 1.767 aislados de levaduras y 399 de bacterias lácticas mediante técnicas de biología molecular. Los resultados obtenidos muestran la presencia de 14 especies de levaduras y nueve especies de bacterias lácticas (Figura 3).

↑
Figura 1.- Localización de las colecciones nacionales de recursos genéticos microbianos integrantes de REDESMI. El número de colecciones por Comunidad autónoma se muestra en el recuadro.
Figura 2.- Imágenes de cultivos puros de levaduras y bacterias lácticas de la CCAS, en fresco, obtenidas por microscopía de contraste de fases (1000X).
 ↓



A: Cepa floculante *Saccharomyces cerevisiae*



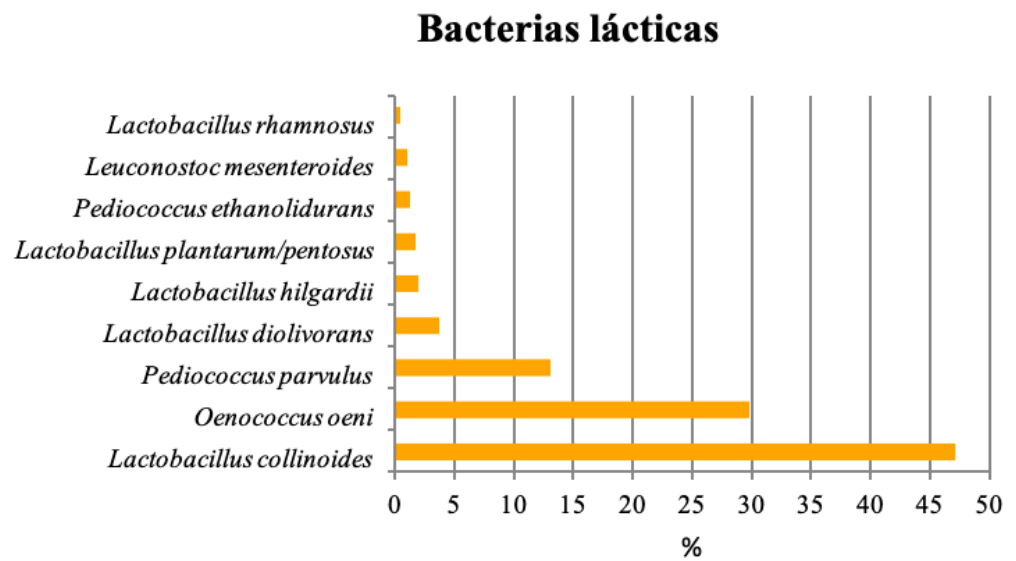
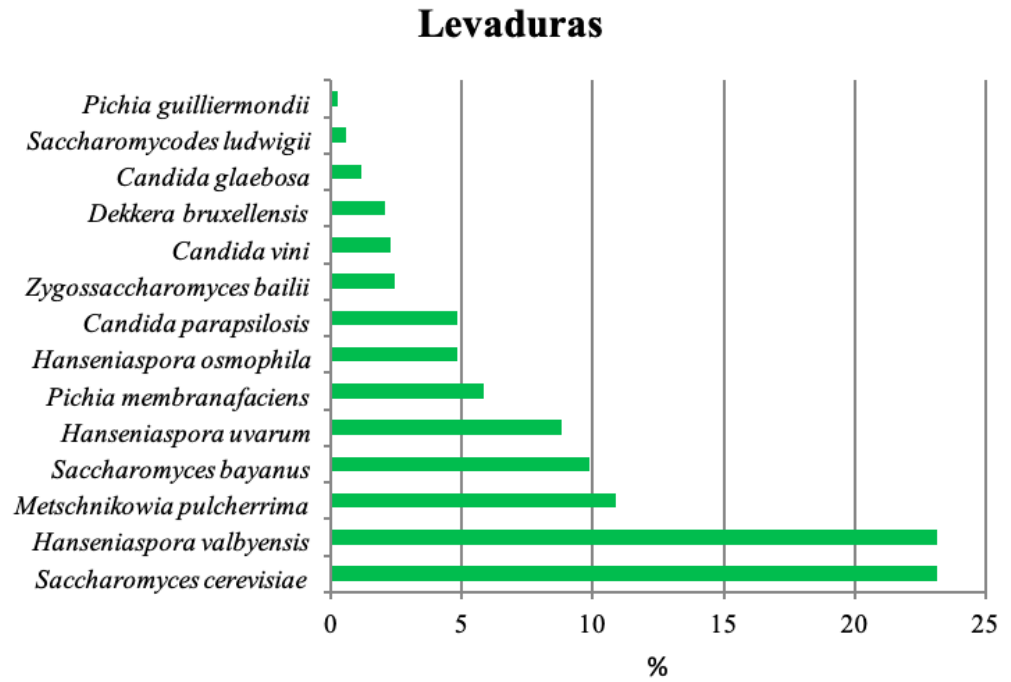
B: Cepa *Saccharomyces bayanus*



C: Cepa *Oenococcus oeni*

→

Figura 3.- Detalle de las especies de levaduras y bacterias lácticas integrantes de la CCAS.



Búsquedas

The screenshot shows the StrainsApp interface with search filters and a list of 12 entries. The search criteria are set to 'LIKE' and 'CCAS'. The list displays the following information for each entry:

Número de colección	Nombre de la especie
CCAS 1	<i>Hanseniaspora uvarum</i> (Niehaus) Shehata, Mrak & Phaff ex M.T. Smith 1984
CCAS 10	<i>Hanseniaspora valbyensis</i> Klöcker, A. 1912
CCAS 11	<i>Metschnikowia pulcherrima</i> Pitt & M.W. Miller 1968
CCAS 12	<i>Saccharomyces ludwigii</i> var. <i>ludwigii</i> (E.C. Hansen) E.C. Hansen, 1952
CCAS 2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Meyen ex E.C. Hansen 1883
CCAS 3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Meyen ex E.C. Hansen 1883
CCAS 4	<i>Saccharomyces bayanus</i> Saccardo 1895
CCAS 5	<i>Hanseniaspora valbyensis</i> Klöcker, A. 1912
CCAS 6	<i>Saccharomyces bayanus</i> Saccardo 1895
CCAS 7	<i>Saccharomyces bayanus</i> Saccardo 1895

Figura 4.- Vista de la aplicación StrainsApp que muestra varios recursos microbianos de la CCAS publicados en el catálogo REDESMI.

Tabla 1.- Características relevantes de las cepas autóctonas incorporadas a REDESMI.

Código REDESMI	Código CCAS	Especie	Fuente de aislamiento	Año de depósito CCAS	Características
CCAS 1	283	<i>H. uvarum</i>	Fermentación mosto manzana	1992	Alta producción ésteres
CCAS 2	3'	<i>S. cerevisiae</i>		2002	Alta floculación
CCAS 3	50'	<i>S. cerevisiae</i>		2002	Alta floculación
CCAS 4	C6	<i>S. bayanus</i>		1992	Alta producción 2-feniletanol
CCAS 5	43	<i>H. valbyensis</i>		2002	Alta producción ésteres
CCAS 6	SB2	<i>S. bayanus</i>		2005	Alta producción 2-feniletanol
CCAS 7	SB22	<i>S. bayanus</i>		2003	Alta producción 2-feniletanol
CCAS 8	32'	<i>S. cerevisiae</i>		2002	Alta floculación
CCAS 9	62	<i>H. uvarum</i>		2002	Producción ésteres
CCAS 10	185	<i>H. valbyensis</i>		2002	Producción ésteres
CCAS 11	302	<i>M. pulcherrima</i>		2002	Producción ésteres
CCAS 12	180	<i>S. ludwigii</i>	Sidra espumosa	2009	Producción ésteres

El uso de algunos de estos microorganismos autóctonos en diferentes procesos de elaboración (sidra con segunda fermentación en botella, fermentación de magaya, sidra de hielo o cerveza) ha permitido una mejora y estandarización de la calidad de dichos productos (Pando Bedriñana, 2011; Pando Bedriñana y cols. 2018; Rodríguez Madrera y cols. 2018).

Valorización de los recursos microbianos

REDESMI potencia la visibilidad pública de las colecciones microbianas nacionales a través de la creación de una aplicación informática "StrainsApp" que incluye el catálogo más completo de cepas con potencial biotecnológico para el sector agroalimentario. En la actualidad, el catálogo está constituido por más de 1.500 cepas de microorganismos pertenecientes a 16 colecciones de los principales centros de investigación españoles (Rodrigo-Torres y cols. 2020). La información puede ser consultada por cualquier usuario ya que la aplicación permite hacer búsqueda de cepas por nombre de especie, características o términos i.e. "cider", "CCAS" (<https://www.microbiospain.org/servicios-cepas/>).

El SERIDA prioriza la inclusión en el catálogo de los recursos microbianos de la CCAS cuya descripción y características han sido publicadas en revistas científicas (Figura 4). En total son 12 cepas pertenecientes a seis especies de levaduras las que han sido incorporadas al catálogo REDESMI (Tabla 1). Entre ellas, cabe destacar que las cepas de las especies *H. uvarum*, *H. valbyensis*, *S. bayanus* y *S. ludwigii* son las únicas representantes de estas especies en dicho catálogo. Además, las tres cepas de la especie *S. cerevisiae* incorporadas desde la CCAS poseen una alta capacidad de floculación, característica que puede ser de notable interés tecnológico.

El catálogo REDESMI permite hacer visibles y públicas las particularidades de los recursos genéticos microbianos de la CCAS, hábitat del que proceden, especies que representan y sus características. El reto de la CCAS no sólo consiste en la conservación, caracterización y exploración de las posibilidades de utilización de estos

recursos microbianos autóctonos, sino en su integración como una estrategia de trabajo para la investigación y el desarrollo biotecnológico.

Agradecimientos

La conservación y caracterización de recursos microbianos de la CCAS se ha realizado con ayuda de proyectos de investigación financiados por el INIA y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (RM2006-00008, RM2009-00005, RTA2009-00111, RTA2009-00113 y RTA2012-00075) y por la Fundación FICYT (PC04-24 y PC06-013). REDESMI ha recibido financiación mediante las acciones complementarias (AC2013-00028-00-00 y RMP2015-00001-00-00) financiadas por el INIA y la Agencia Estatal de Investigación-MCIU respectivamente.

Referencias bibliográficas

- PANDO BEDRIÑANA, R. (2011). Selección de levaduras para la elaboración de sidras naturales espumosas por el método tradicional o "Champenoise" (II). *Tecnología Agroalimentaria* N° 10, 29-32.
- PANDO BEDRIÑANA, R., PICINELLI LOBO, A. & SUÁREZ VALLES, B. (2018). Fermentaciones de sidras de hielo: levadura autóctona vs levaduras comerciales. *Tecnología Agroalimentaria* N° 21, 58-63.
- RODRÍGUEZ MADRERA, R., PANDO BEDRIÑANA, R. & SUÁREZ VALLES, B. (2018). Levaduras autóctonas de origen sidrero para la elaboración de cerveza. *Tecnología Agroalimentaria* N° 21, 64-68.
- RODRIGO-TORRES, L., ZUZUARREGUI MIRÓ, A. & AZNAR NOVELLA, R. La Red Española de Microorganismos, REDESMI, ya cuenta con 40 colecciones. (2019). *Sem@foro* N° 67, 17-18.
- RODRIGO-TORRES, L., ZUZUARREGUI MIRÓ, A., LÓPEZ CORONADO, J.M. & AZNAR NOVELLA, R. (2020). StrainsApp: el catálogo de microorganismos españoles accesible "on-line". *Sem@foro* N° 69, 12-13. ■



Aceites de pepita de manzana y cosmética natural

ROBERTO RODRÍGUEZ MADRERA. Área de Tecnología de los Alimentos. rrodriguez@serida.org
BELÉN SUÁREZ VALLES. Jefa del Área de Tecnología de los Alimentos. mbsuarez@serida.org

La piel actúa como barrera frente a los agentes externos y la pérdida de humedad. Una piel sana se caracteriza por un equilibrio entre los lípidos epidérmicos y la hidratación. Sin embargo, la piel está sometida a un proceso natural de envejecimiento ligado a factores internos y externos. Los primeros no pueden modificarse, ya que están originados por el paso del tiempo y la genética, mientras que los factores externos son debidos al estrés oxidativo que sufren nuestras células.

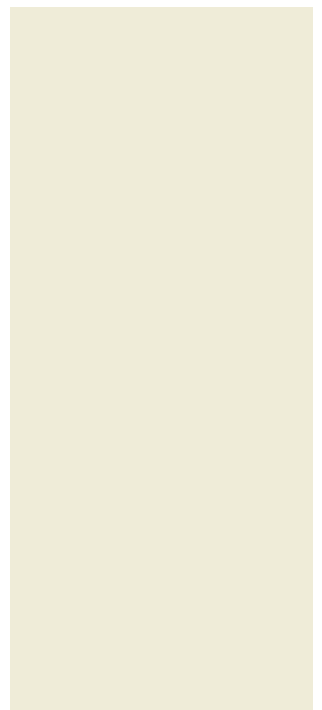
Los cosméticos protegen la piel contra los agentes nocivos que causan su envejecimiento, ayudan a reparar la función barrera evitando la pérdida de agua y suplementan los lípidos naturales de la piel.

Impulsada por las tendencias actuales -estilo de vida saludable, sostenible y comprometido con el medio ambiente- la demanda

de cosméticos naturales ha experimentado un constante crecimiento. Así, en el diseño de productos para el cuidado personal, los aceites vegetales se han constituido como ingredientes base para su formulación, desplazando a los aceites minerales derivados del petróleo.

En Asturias, en cada campaña de elaboración de sidra natural, se originan más de 9.000 toneladas de magaya, residuo sólido generado tras el prensado de la manzana, y constituido por restos de pedúnculos, piel, pulpa y pepitas.

Diferentes trabajos del Área de Tecnología de los Alimentos del SERIDA han mostrado el potencial de este subproducto, bien para emplearlo como ingrediente en la elaboración de productos libres de gluten o como fuente de compuestos bioactivos (Rodríguez y Suárez, 2019; Picinelli et al., 2021).





Composición	Facial	Argán		Almendra		Pepita de manzana		
	A	A	B	A	B	x*	máx.	mín.
Ácidos grasos¹								
Mirístico (C14:0)	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Palmítico (C16:0)	1,3	14,1	14,1	6,6	5,9	7,3	7,6	7,1
Estearico (C18:0)	0,7	5,2	5,6	2,0	3,1	1,9	2,2	1,7
Araquídico (C20:0)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3	0,2
Behénico (C22:0)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2	0,2
Palmitoleico (C16:1)	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
Oleico (C18:1)	26,3	48,5	47,3	66,4	72,5	33,4	34,5	32,5
Gadoleico (C20:1)	0,0	0,2	0,2	0,2	0,1	0,4	0,4	0,3
Linoleico (C18:2) ω-6	2,5	31,4	32,4	24,4	18,1	55,3	57,0	53,0
Linolénico (C18:3) ω-3	0,0	0,2	0,2	0,1	0,1	1,2	1,4	1,0
Total Saturados	2,0	19,4	19,8	8,7	9,0	9,7	10,1	9,2
Total Monoinsaturados	26,4	48,8	47,6	66,8	72,7	33,9	35,0	33,0
Total Poliinsaturados	2,5	31,6	32,6	24,5	18,2	56,5	58,0	55,1
Total Insaturados	28,9	80,4	80,2	91,3	90,9	90,4	91,0	90,0
Tocoferoles²								
alfa	0,0	17,1	0,0	2,5	0,0	439,2	491,7	393,2
beta	0,0	19,2	0,1	0,2	0,0	794,5	903,0	701,5
gamma	13,0	294,0	11,2	0,5	0,0	26,4	33,4	19,9
delta	43,2	22,9	8,4	0,0	0,0	19,9	44,8	8,0
Total	56,2	353,2	19,7	3,3	0,0	1.280,0	1.454,4	1.127,0
Escualeno²	nc	2.169	1.609	69	111	246,0	325,0	203,0



Tabla 1.- Composición de los aceites vegetales analizados.

¹: % ésteres metílicos;

²: mg/kg aceite;

*: promedio de 10 muestras;

nc: no cuantificado.

Igualmente, nuestros estudios han puesto de manifiesto el interés de las pepitas presentes en magaya de *llagares* acogidos a la DOP Sidra de Asturias como fuente de aceite vegetal (Rodríguez y Suárez, 2018). Estos aceites de manzana, con rendimientos superiores al 20% del peso de la pepita, están constituidos mayoritariamente por ácidos grasos insaturados y muestran una importante actividad antioxidante.

En este trabajo se compara la composición lipídica de los aceites obtenidos de pepitas

de manzana con las de diferentes aceites comerciales de uso cosmético.

Aceites y composición

Se analizó el perfil lipídico (ácidos grasos, tocoferoles y escualeno) de diez aceites de pepitas de manzana y de cinco aceites comerciales: dos de argán, dos de almendras dulces y un aceite cosmético de uso facial. Los aceites de almendra están indicados para el cuidado corporal, mientras que los de argán pueden ser aplicados sobre rostro y cuerpo.



Los ácidos grasos fueron analizados por Cromatografía de gases (GC/MS), después de su conversión en ésteres metílicos, siguiendo los métodos oficiales para aceites y grasas. El escualeno se analizó por GC/MS previa saponificación con KOH metanólico y extracción con hexano. Los tocoferoles se determinaron por Cromatografía de líquidos con detector de fluorescencia (HPLC/FLD).

En la Tabla 1 se recoge la composición de los aceites vegetales y los valores promedio, máximo y mínimo de los aceites de pepita de manzana.

Los ácidos grasos son los constituyentes mayoritarios de los aceites vegetales. Si en su estructura aparecen dobles enlaces se clasifican como insaturados, por el contrario, si no los hay se denominan saturados. En general la mayor o menor presencia de estas familias en los aceites influye en sus características físico-químicas y en su susceptibilidad a la oxidación.

En los aceites de argán y almendras dulces los ácidos grasos insaturados constituyen más del 80 % del total de ácidos, representando los monoinsaturados la fracción dominante. El ácido oleico fue el mayoritario en todos los aceites comerciales, seguido por los ácidos linoleico, palmítico y esteárico.

Los aceites de pepita de manzana muestran perfiles de ácidos grasos diferentes a los anteriores, pero muy similares entre sí. Los ácidos grasos insaturados representan más del 90 %, destacando como mayoritario el ácido linoleico (poliinsaturado), seguido por el oleico y, en menor proporción, el palmítico y el esteárico.

Los ácidos grasos esenciales son ácidos poliinsaturados pertenecientes a la serie omega-6 (ω -6) y omega-3 (ω -3) que no se sintetizan por el organismo humano por lo que deben provenir del exterior. Los ácidos grasos esenciales constituyen el grupo más relevante en el caso del aceite derivado de manzana (>55 %), destacando el contenido de ácido linoleico (ω -6), mayoritario en los aceites de manzana, y el ácido linolénico (ω -3). Ambos ácidos resultan esenciales para la síntesis de la membrana celular, la regeneración de los tejidos, y además, son

agentes hidratantes naturales que combaten la sequedad de la piel.

Por otro lado, cabe señalar que en el aceite facial los ácidos grasos representan tan sólo el 31 % de la fracción lipídica, mientras que el resto está formado por compuestos derivados de hidrocarburos de elevada masa molecular.

La vitamina E y el escualeno son componentes minoritarios de los aceites con especial interés en el desarrollo de los productos para el cuidado cutáneo.

Con el término vitamina E se designa un grupo de 8 especies que se clasifican en dos series homólogas: tocoferoles y tocotrienoles. Cada una de las series está compuesta por 4 isómeros: α (alfa), β (beta), γ (gamma) y δ (delta). Estos compuestos son liposolubles y esenciales, es decir, son solubles en aceites y no pueden ser sintetizados por el organismo. Su fuente natural son los aceites vegetales. En este trabajo se determinaron la serie de los tocoferoles por ser los mayoritarios en los aceites estudiados.

Todos los aceites derivados de manzana presentaron el mayor contenido en tocoles, con valores entre 1.127 mg/kg y 1.454 mg/kg, siendo β -tocoferol el más importante (62 %), seguido por α -tocoferol (34 %), γ -tocoferol (2 %) y δ -tocoferol (1,5 %). La vitamina E fue detectada únicamente en tres de los aceites cosméticos y su contenido resultó muy variable. Uno de los aceites de argán destacó por su contenido en γ -tocoferol que representó el 84 % de su riqueza en tocoles.

Sin embargo, hay que señalar que la actividad biológica de los tocoferoles es diferente para cada isómero, de acuerdo con el orden $\alpha > \beta > \gamma > \delta$. Así, la forma más activa se encuentra en la forma α , la actividad del isómero β se reduce al 50 %, la del γ al 10 % y la del δ únicamente resulta ser el 3 %. Por otra parte, la presencia de tocoferoles protege a los aceites frente a su propia oxidación y ranciedad. Por ello, tan importante es la cantidad de tocoferoles totales como la distribución de los isómeros. Los aceites de manzana destacan tanto, por la cantidad de tocoferoles, como por la calidad de sus isómeros.

La vitamina E se encuentra mayoritariamente en la epidermis de la piel, donde ejerce un papel protector del daño oxidativo. Desde un punto de vista cosmético, el interés de esta vitamina se encuentra en su poder como antioxidante, su capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica y como captador de radicales libres (antienviejecimiento).

El escualeno está presente de forma natural en la piel, es un isoprenoide natural con propiedades antioxidantes, intermedio de la biosíntesis de esteroides, precursor del colesterol y la vitamina D.

Entre los aceites analizados destacan los de argán con concentraciones superiores hasta en un orden de magnitud a los de semillas de manzana, que se situaron en segundo lugar.

Los aceites ricos en escualeno tienen propiedades emolientes y antioxidantes. Con el envejecimiento la piel pierde la capacidad de su producción, y su aporte cosmético ayuda a proteger la barrera cutánea y evitar la deshidratación.

Conclusiones

Los compuestos esenciales de los aceites de pepita de manzana de sidra les aportan excelentes propiedades para su uso como ingrediente natural en cosmética, siendo fuente de:

- Ácidos: linoleico (>50 %), oleico (>30 %) y linolénico (>1 %)
- Vitamina E (>1g/kg): 64 % β -tocoferol y 34 % α -tocoferol
- Escualeno (>200 mg/kg)

Referencias bibliográficas

ROBERTO RODRÍGUEZ MADRERA y BELÉN SUÁREZ VALLES. (2019). Elaboración de productos sin gluten enriquecidos con magaya. *Tecnología Agroalimentaria*, 22, 35-40.

ANNA PICINELLI LOBO, AMADA GARITAS BULLÓN y BELÉN SUÁREZ VALLES. (2021). La magaya de la actividad sidrera: fuente de compuestos bioactivos de elevado interés. Ácidos triterpénicos. *Tecnología Agroalimentaria*, 24, 48-51.

ROBERTO RODRÍGUEZ MADRERA y BELÉN SUÁREZ VALLES. (2018). Characterization of apple seeds and their oils from the cider-making industry. *European Food Research and Technology*, 244, 1821-1827.

Agradecimientos

Información generada por los proyectos RTA-2013-00110-00-00 y RTA2015-00060-C04-03) financiados por el INIA y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Los autores agradecen a la empresa Martínez Sopeña Hermanos SL (Villaviciosa, Asturias) su colaboración en este estudio. ■

Presentación del libro *El avellano en Asturias: diversidad genética local y guía para su cultivo y recuperación*

JUAN JOSÉ FERREIRA. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. jferreira@serida.org

ANA CAMPA NEGRILLO. Área de Cultivos Hortofrutícolas y Forestales. Programa de Genética Vegetal. acampa@serida.org



El Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) presentó el pasado 2 de octubre, en el marco del 49 Festival de la Avellana, el libro *El avellano en Asturias: diversidad genética local y guía para su cultivo y recuperación*, editado por la entidad, y cuyos autores son los Dres. Juan José Ferreira y Ana Campa del Programa de Genética Vegetal del SERIDA, y la Dra. Mercé Rovira, investigadora del Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Centre Mas Bové, Generalitat de Catalunya.

El objetivo de este trabajo ha sido reunir y describir los resultados obtenidos en los últimos años, en la conservación y caracterización de la diversidad genética local del avellano.

Esta publicación proporciona datos sobre las características, diferencias y comportamiento de variedades locales de avellano, tanto para la preservación de la diversidad genética local de esta especie, como para el diseño de futuras plantaciones. Con esta publicación se pretende poner en valor este cultivo tradicional y contribuir a su recuperación y modernización.

El acto se celebró en Infiesto, Piloña, y además del equipo investigador, contó con la asistencia de Begoña López Fernández, directora general de Desarrollo Rural y Agroalimentación, Mamen Oliván, directora gerente del SERIDA, e Iván Allende, alcalde del Ayuntamiento de Piloña. ■



Por la izquierda: Iván Allende, alcalde de Piloña, Begoña López, directora general de Desarrollo Rural y Agroalimentación y Mamen Oliván, directora gerente del SERIDA.



Día Internacional de la Mujer
y la Niña en la Ciencia



EL SERIDA celebró el Día Internacional de la Mujer y la Niña en la Ciencia

MARÍA DEL PILAR ORO GARCÍA. Área de Transferencia y Formación. pilaroro@serida.org

El SERIDA se ha sumado este año a la celebración del Día Internacional de la Mujer y la Niña en la Ciencia, que tuvo lugar el 11 de febrero, con la realización de una serie de ocho vídeos cuyas protagonistas son investigadoras del centro que explican su actividad en diferentes áreas de trabajo, a la vez que reivindican su papel como científicas. Estos vídeos se emitieron a lo largo de la primera y segunda semana de febrero en el canal de YouTube del SERIDA y están disponibles en el enlace: <http://ow.ly/w00U30rwjTP>

Por otra parte, investigadoras del centro han participado en charlas y actividades organizadas por centros educativos de la región, presentando su trabajo como científicas, con el objetivo de destacar el papel

de la mujer en la actividad investigadora y despertar nuevas vocaciones.

El 11 de febrero es una fecha establecida por la Asamblea General de las Naciones Unidas en el año 2015, con el fin de lograr el acceso y la participación plena y equitativa en la ciencia de las mujeres y las niñas, y además lograr la igualdad de género.

Numerosas instituciones científicas han puesto en marcha diferentes iniciativas para conmemorar esta fecha y reivindicar el papel de la mujer y la niña en la ciencia, y así romper la brecha de género en los sectores de la ciencia, la tecnología, ingeniería y las matemáticas (STEM), presente todavía en muchos países. ■

XXVII Xornaes de les Fabes en Villaviciosa

Jornada Técnica

M^º DEL PILAR ORO GARCÍA. Área de Transferencia y Formación. pilaroro@serida.org

GUILLERMO GARCÍA GONZÁLEZ DE LENA. Área de Experimentación y Demostración Agroforestal. ggarcia@serida.org



La Casa de los Hevia acogió la presentación de las XXVII Xornaes de les Fabes en Villaviciosa, que se celebraron los días 22 y 23 de mayo. El acto contó con la intervención del alcalde de Villaviciosa, Alejandro Vega; la directora gerente del SERIDA, Mamen Oliván; el presidente de la IGP Faba Asturiana, Sergio Suárez y David Fernández, director del concurso "La Mejor Fabada del Mundo".

En el marco de estas jornadas, y con el objetivo de trasladar al sector los resultados de las investigaciones desarrolladas para la mejora de este cultivo, el viernes 21 de mayo, se celebró una jornada técnica sobre el cultivo de la Faba Asturiana, a cargo del SERIDA, que tuvo lugar en la Casa de los Hevia, a partir de las 10 horas. En la inauguración intervinieron el alcalde de Villaviciosa, Alejandro Vega;

la directora gerente del SERIDA, Mamen Oliván; y el presidente de la IGP Faba Asturiana, Sergio Suárez.

En este encuentro se presentaron tres ponencias, la primera: *Efecto de la humedad de la semilla en la calidad de la Faba Asturiana*, impartida por Ana Campa, investigadora del Programa de Genética Vegetal del SERIDA, que expuso las investigaciones llevadas a cabo dentro de diferentes proyectos, con la finalidad de ofrecer soluciones a una de las preocupaciones del sector, la rotura de la piel y semilla de la faba.

Rocío Rosa García investigadora del Área de Nutrición, Pastos y Forrajes, en colaboración con Aitor Somoano, investigador del Programa de Fruticultura impartió la charla *Efecto de *Nezara viridula* en el cultivo de las*



Por la izquierda: Mamen Oliván, Alejandro Vega, y Sergio Suárez en la inauguración de la jornada.

→

La Dra. Ana Campa durante la ponencia.



→

La Dra. Rocío Rosa durante su intervención.



fabas. El chinche verde, explicando el trabajo desarrollado para cuantificar y relacionar los daños producidos en vainas y semillas de faba por la presencia de este insecto.

→

Stand del SERIDA en el "Mercado de Primavera".



La jornada finalizó con la intervención de Sergio Suárez, presidente del Consejo Regulador de la IGP Faba Asturiana, que habló de la *Situación actual del cultivo de la IGP Faba Asturiana y retos de futuro*, presentando el balance de la última campaña, y retos a alcanzar, destacando la profesionalización del sector a través de diferentes medidas, en las que colaborará el SERIDA.

Las ponencias de esta jornada podrán visionarse a través del canal de YouTube del SERIDA.

Por otra parte, el SERIDA participó durante el fin de semana en el "Mercado de Primavera" con la instalación de un stand, donde se ofreció información de la entidad y de los trabajos de investigación en el sector agroalimentario. ■

Nuevos proyectos de I+D+i

Área de Genética y Reproducción Animal

Global Omic Data Integration on Animal, Vegetal and Environment Sectors (GLOMICAVE)

Entidad financiadora: Unión Europea (Horizon 2020)

Referencia: NMBP-TR-IND-2020 GA No. 952908

Investigador Principal: Dr. Enrique Gómez Piñeiro (SERIDA)

Cantidad concedida: 356.093 €

Duración: 2020 – 2024

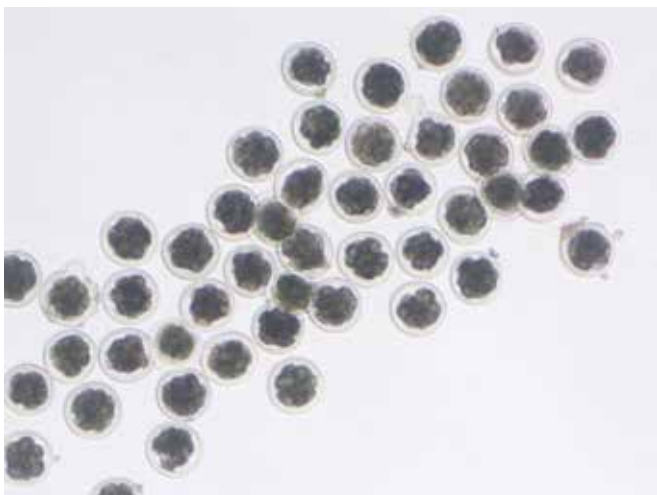
Descripción: El área de Genética y Reproducción Animal del SERIDA participa en el proyecto GLOMICAVE a través de un consorcio formado por 14 entidades (centros de investigación, centros tecnológicos, empresas y universidades) de seis países europeos. Se trata de desarrollar una gran plataforma digital capaz de asociar fenotipos (los caracteres observables de un individuo) con datos obtenidos mediante tecnologías analíticas de alta resolución (las llamadas ÓMICAS: Metabolómica, Genómica, Transcriptómica, Proteómica). El proyecto utilizará instrumentos de Big Data e Inteligencia Artificial para llegar a un procesamiento automatizado de información, partiendo tanto de datos ya publicados, como de datos generados de modo experimental. Se estima que la plataforma que se desarrollará en el proyecto para la asociación de fenotipos y datos analíticos podrá ser manejada por personal no experimentado.

En el proyecto participan además otras tres entidades asturianas, la Asociación Española de Criadores de Ganado Vacuno Selecto de la Raza Asturiana de los Valles (ASEAVA), la Asociación de Industrias Cárnicas (ASINCAR), y la empresa Tree Technology, experta en Inteligencia Artificial y Big Data.



El SERIDA colaborará estrechamente con ALLICE (empresa francesa de Mejora Genética y Biotecnología de la Reproducción Animal) y con el Centre for Omic Sciences de la Universidad Rovira y Virgili de Reus (Fundación Eurecat). El SERIDA aportará su experiencia en el desarrollo de biomarcadores predictivos de la capacidad de gestación, de embriones y receptoras, aplicada en esta ocasión al ganado Holstein de aptitud lechera.

El proyecto GLOMICAVE está liderado por la Fundación Eurecat, cuenta con una financiación de la Unión Europea próxima a 6,3M euros, y se desarrollará a lo largo de 42 meses.





Nuevos convenios, contratos, acuerdos y protocolos

Contratos

Contrato Licencia de Multiplicación y Explotación de la variedad de judía Maruxina

Objeto: Regular las condiciones del contrato entre las tres entidades: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) y Cooperativa de Agricultores del Concejo de Gijón.

Duración: desde el 4 de mayo de 2020 al 3 de mayo de 2024.

Acuerdos

Acuerdo de colaboración entre Corporación Alimentaria Peñasanta S.S (Capsa Food) y el SERIDA

Objeto: Establecer un marco de colaboración para promover el desarrollo de emprendedores, negocios o empresas de base tecnológica ya existentes o de nueva creación.

Duración: desde el 10 de marzo de 2021 hasta el 31 de diciembre de 2021.

Acuerdo de cotitularidad de patente entre el Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario, S.A. y el SERIDA

Objeto: Regular la cotitularidad de los derechos de propiedad intelectual e industrial a que puedan dar lugar los resultados o contratos firmados al amparo del Acuerdo.

Duración: desde el 13 de marzo de 2020 y mientras se encuentren en vigor los derechos de propiedad intelectual e industrial a que puedan dar lugar los resultados o contratos firmados al amparo del Acuerdo.

Protocolos

Protocolo de prestación de servicios analíticos y consultoría científico-técnica con la empresa Biesca Agroforestal y Medioambiente S.L.

Objeto: Establecer las reglas de la prestación de los servicios que el SERIDA realizará para Biesca Agroforestal y Medioambiente, en relación con el proyecto *Investigación de la capacidad del BIOCHAR, procedente de la valorización de biomasa agroalimentaria y forestal, como material funcional para la generación de fertilizantes orgánicos de última generación* (FERTICHAR, N° de Referencia IDE/2020/000397), financiado por el Gobierno del Principado de Asturias a través del Instituto de Desarrollo Económico del Principado de Asturias (IDEP) en la Convocatoria 2020.

Duración: desde el 17 de marzo de 2021 hasta el 30 del 11 de 2022.

Protocolo de prestación de servicios analíticos y consultoría científico-técnica con la empresa Bizkares Biosolutions S.L.

Objeto: Establecer el marco de colaboración para desarrollo del proyecto *Compuesto certificado para la maduración de purines y la reducción de emisiones* (Ref. SNEO-20201128), financiado por Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) en la convocatoria 2020 de ayudas destinadas a nuevos proyectos empresariales de empresas innovadoras (Programa NEOTEC).

Duración: desde el 17 de marzo de 2021 hasta la finalización del proyecto.

Protocolo de prestación de servicios analíticos y consultoría científico-técnica con la empresa Delagro

Objeto: Establecer el marco de colaboración para desarrollo del proyecto *Evaluación en campo de la utilización de microorganismos (bioestimulantes) en calizas y fertilizantes*.

Duración: Desde el 1 de enero de 2021 hasta el 30 de junio de 2022.



Protocolo de colaboración entre el SERIDA y la Dirección General de Medio Natural y Planificación Rural del Principado de Asturias

Objeto: Acordar la colaboración científico-técnica entre la Dirección General de Medio Natural y Planificación Rural del Principado de Asturias y el SERIDA para la investigación conjunta en el ámbito de la Sanidad Animal y la Conservación de los Recursos Naturales en el Principado de Asturias.

Duración: desde el 20 de agosto de 2020.



Protocolo de prestación de servicios analíticos y de consultoría científico-técnica del SERIDA a Syngenta España S.A.

Objeto: Establecer las reglas de prestación de servicios en el marco del proyecto de *Evaluación y caracterización de variedades comerciales de maíz híbrido para ensilar de la empresa Syngenta en las condiciones edafoclimáticas de la zona costera centro oriental del Principado de Asturias.*

Duración: desde el 1 de junio de 2020 hasta el 15 de diciembre de 2020.

Protocolo de prestación de servicios analíticos y de consultoría científico-técnica del SERIDA a KWS Semillas Ibérica S.L.U

Objeto: Establecer las reglas de prestación de servicios en el marco del proyecto de *Maíz híbrido para ensilar de la empresa KWS en las condiciones edafoclimáticas de la zona costera oriental del Principado de Asturias.*

Duración: desde el 15 de mayo de 2020 hasta el 15 de diciembre de 2020.



Protocolo de prestación de consultoría científico-técnica del SERIDA a Associació de Pagesos I Ramaders del Principat D'Andorra.

Objeto: Regular las condiciones de la prestación de servicios que el SERIDA realizará para la Associació de Pagesos I Ramaders del Principat D'Andorra (APRA), en relación con el proyecto *Pla de Recerca sobre la viabilitat del cultiu de nabius al Principat d'Andorra.*

Duración: desde el 12 de mayo de 2020 hasta el 31 de diciembre de 2020.

Protocolo de prestación de servicios analíticos y de consultoría científico-técnica del SERIDA a la Asociación de Criadores de Ganado Equino de Montaña Asturiana (ACGEMA) en el marco de los proyectos de innovación de grupos operativos.

Objeto: Establecer reglas en la prestación de los servicios que el SERIDA realizará para ACGEMA en relación con el proyecto *Mejora del Sistema de Reproducción en Ganado Equino de Carne.* Convocatoria 2019 - 2020.

Duración: desde enero de 2020 hasta noviembre de 2021.

Tesis y seminarios

Tesis Doctorales



Cellular Basis and Optimization of Cryopreservation Survival of Bull Sperm

Bases celulares y optimización de la supervivencia de la criopreservación de semen de toro

Autor: Amer Salman

Año: 2020

Directores: Dres. José Néstor Caamaño Galdoni (SERIDA) y Felipe Martínez-Pastor, Universidad de León

Lugar de presentación: Universidad de León

La inseminación artificial con semen congelado es una herramienta indispensable en el manejo del ganado en todo el mundo. Aunque los protocolos para la criopreservación de semen de toros están bien establecidos, se requieren más investigaciones y mejoras para resolver varios problemas que causan una disminución en la calidad del semen y en su fertilidad después de la descongelación.

El objetivo principal de esta tesis es mejorar los protocolos de criopreservación para el semen de toro. Se han realizado varios experimentos utilizando toros de Asturiana de los Valles, una raza de ganado autóctono español y también toros de la raza Holstein. En todos los experimentos de esta tesis el semen se evaluó directamente después de la descongelación y después de cinco horas de incubación por el sistema CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) y por citometría de flujo (viabilidad, integridad del acrosoma, capacitación, apoptosis, determinación del potencial de membrana mitocondrial, producción de especies de oxígeno reactivo citoplasmático (ROS) y superóxido mitocondrial, e integridad del ADN).

En el primer experimento se evaluó el impacto de extender el tiempo de equilibrado de 4 h a 24 h utilizando los diluyentes BIOXcell y OPTIXcell sobre la calidad del semen de toro después de la descongelación. Además, se incluyó la adición de 2 mM de glutatión (GSH) al diluyente de congelación de semen. La extensión del tiempo de equilibrado en ambos diluyentes redujo la motilidad de los espermatozoides después de la descongelación, aunque mejoró su viabilidad. La adición de glutatión redujo ligeramente el superóxido mitocondrial.

En el segundo y tercer experimento se utilizaron antioxidantes no enzimáticos como: curcumina, crocina y glutatión y el crioprotector trehalosa en el diluyente de congelación BIOXcell con el objetivo de mejorar la calidad del semen después de la descongelación. Los resultados mostraron una reducción en la calidad del semen después de la descongelación cuando se suplementó con trehalosa a 50 mM y, especialmente,

100 mM. La trehalosa resultó en un ligero efecto antioxidante, reduciendo ROS. El glutatión disminuyó la producción del anión superóxido mitocondrial. Sin embargo, GSH no mejoró la calidad del esperma después de la descongelación. A su vez, la curcumina y la crocina tampoco mejoraron la calidad del semen.



El objetivo del cuarto experimento fue probar el efecto de la centrifugación en coloide de capa única (SLC) y de capa doble (DLC), durante la pre congelación en semen de toro para mejorar la calidad tras la descongelación. Se utilizó el coloide comercial BoviPure con este fin y el experimento se realizó con semen de toros de la raza Holstein-Friesian.

Los resultados confirmaron que tanto el SLC como el DLC mejoraron la motilidad y los parámetros fisiológicos de los espermatozoides después de la descongelación comparado con el grupo control. También redujeron la fragmentación del DNA espermático. Por lo tanto, podemos concluir que SLC podría ser adecuado para el uso práctico en centros de inseminación, siendo más barato y más fácil de realizar.

Mediante un enfoque integrador, combinando aproximaciones empíricas y participativas basadas en la teoría que vincula la biodiversidad con el funcionamiento ecosistémico y el marco de los servicios de los ecosistemas, los resultados de esta tesis sugieren que las aves insectívoras y los insectos polinizadores pueden promoverse simultáneamente si se aumentan los hábitats leñosos semi-naturales alrededor de las plantaciones y se favorece un dosel continuo y extenso de manzanos dentro de ellas. Ambas medidas están relacionadas con el suministro de diferentes recursos como lugares de nidificación, refugios contra depredadores y fuentes de alimento alternativas.

Finalmente, y a modo de resumen esta tesis ofrece, en primer lugar, una perspectiva integradora sobre el suministro de los servicios de control biológico de plagas y de polinización en cultivos de manzana por diferentes grupos de biodiversidad (aves insectívoras, parasitoides de carpocapsa e insectos polinizadores). En segundo lugar, prueba que esta biodiversidad está condicionada por el paisaje y factores a escala local, y por último, demuestra que los estudios participativos son esenciales para diseñar estrategias de gestión exitosas. Las plantaciones de manzana de sidra asturianas pueden ser un ejemplo de una agricultura basada en prácticas agrícolas sostenibles y en la biodiversidad, demostrando la existencia de otros modelos de producción que pueden satisfacer la demanda futura de alimentos y reducir al mismo tiempo los daños en el medio ambiente y la pérdida de biodiversidad.



Identificación de biomarcadores específicos para autenticar el origen y el sistema de alimentación del vacuno lechero

Autor: Senén de la Torre Santos

Año: 2021

Directores: Dres. Fernando Vicente Mainar y Luis Royo Martín (SERIDA)

Lugar de presentación: Universidad de Zaragoza

En la actualidad, una búsqueda constante por la optimización y sostenibilidad de los sistemas de producción lecheros pone de manifiesto el incremento en la demanda por parte de los consumidores de la distinción de las características nutricionales relacionadas con la calidad de la leche y los productos lácteos, aunado a un uso racional de los recursos, a una disminución en el impacto al medio ambiente y a una producción respetuosa con el bienestar animal. Los sistemas de alimentación basados en pastos y forrajes posibilitan alcanzar dichas propiedades y son un mecanismo clave para mejorar la rentabilidad de las ganaderías, ya que son económicamente competitivos y permiten alterar el perfil nutritivo de la leche y los productos lácteos. Ahora bien, es preciso establecer mecanismos de certificación de los productos que permitan relacionarlos con su sistema de producción.

En el presente trabajo se llevaron a cabo dos experimentos, desarrollados en la Unidad de Leche del Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA) de Asturias, con el objetivo principal de identificar biomarcadores específicos para autenticar el origen y el sistema de alimentación del vacuno lechero a partir de la leche.

El primero de los estudios tuvo como objetivo examinar el efecto del método de suministro del forraje: pastoreo, corte y acarreo o ensilado, sobre el rendimiento de la leche y los perfiles de ácidos grasos, antioxidantes y la expresión de microARN de la leche, con el fin de ser utilizados como biomarcadores del sistema de alimentación. Para ello se realizó un ensayo *in vivo* del 26 de abril al 26 de junio de 2017, siguiendo un diseño cross-over con 18 vacas Holstein en lactación distribuidas en tres grupos sobre los que se estudiaron tres tratamientos: 1) estabulación permanente y ensilado de hierba *ad libitum*, 2) estabulación permanente y aporte de hierba *ad libitum* en corte y acarreo, y 3) pastoreo permanente. Durante el ensayo se tomaron muestras de los alimentos ofertados, para determinar su valor nutritivo, y de la leche producida, para análisis de composición química, perfil de ácidos grasos, antioxidantes y expresión de microARN. Se observó que las vacas en pastoreo tuvieron más ingesta de materia seca que las vacas en estabulación con corte y acarreo o ensilado de hierba *ad libitum* (18,1 vs. 14,1 y 15,2 kg/día respectivamente, $p < 0,001$). El rendimiento en la producción de leche fue diferente entre los tratamientos experimentales, así como las proporciones de proteína, lactosa, sólidos no grasos y urea, con una mayor concentración en la leche de las vacas en pastoreo que en las estabuladas. Dentro del perfil de la materia grasa de las muestras de leche de los diferentes tratamientos, se encontraron diferencias significativas en la proporción de algunos ácidos

grasos, como el vaccénico, ruménico, y en la ratio C18:1 trans-11/ C18:1 trans-10 en los animales en pastoreo, lo cual, denota una dieta con un alto consumo de ácidos grasos poliinsaturados provenientes de la hierba fresca. En el contenido de antioxidantes liposolubles no se observaron diferencias significativas en la concentración de vitaminas A y E en la leche de acuerdo con el sistema de alimentación. La leche de las vacas en pastoreo tuvo una mayor proporción de luteína que la de las vacas alimentadas con ensilado de hierba ($p < 0,01$), con valores intermedios en el sistema de corte y acarreo. Sin embargo, no encontramos diferencias entre los tratamientos en la concentración de carotenos u otros antioxidantes debido, probablemente, a que toda la alimentación se realizó con pastos muy similares. La leche de vacas en pastoreo presentó una mayor proporción en ambas fracciones de bta-mir451 que la leche de vacas en estabulación que recibieron forraje verde de corte y acarreo o ensilado de hierba ($p < 0,01$).

El segundo experimento tenía como objetivo evaluar la influencia en la dieta, con y sin pastoreo, de leguminosas con creciente implantación en la cornisa cantábrica sobre la producción y composición de la leche, especialmente en el perfil de ácidos grasos, antioxidantes y expresión de microARN. Este ensayo se llevó a cabo del 6 de marzo al 7 de mayo de 2018, siguiendo, de igual manera que en el anterior, un diseño *cross-over* con 18 vacas en producción distribuidas en seis grupos sobre los cuales se estudiaron seis tratamientos: 1) estabulación permanente y ración completa mezclada de raigrás italiano, *ad libitum* 2) estabulación permanente y ración completa mezclada de habas forrajeras, *ad libitum* 3) estabulación permanente y ración completa mezclada de guisantes forrajeros, *ad libitum* 4) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de ración completa

mezclada de raigrás italiano 5) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de ración completa mezclada de habas forrajeras y 6) pastoreo continuo y oferta de dos horas tras cada ordeño de ración completa mezclada de guisantes forrajeros. Durante el ensayo se tomaron muestras de los alimentos ofertados, para determinar su valor nutritivo, y de la leche producida, para análisis de composición química, perfil de ácidos grasos, antioxidantes y expresión de microARN, de modo similar al ensayo realizado en el 2017. En los resultados obtenidos de la materia grasa de las muestras de los diferentes tratamientos se observaron fuertes cambios relacionados con el consumo de diferentes tipos de ensilado en la dieta y al manejo con y sin pastoreo. Cuando se sustituye el ensilado de raigrás italiano por ensilado de leguminosas, la grasa de la leche tiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados, especialmente con la inclusión de ensilado de haba en la ración. La práctica del pastoreo en la alimentación de las vacas influye directamente en la composición de la leche, mejorando su calidad al disminuir la proporción de ácidos grasos saturados e incrementar el contenido en insaturados, monoinsaturados, poliinsaturados y ácido linoleico conjugado, proporcionando de esta manera un perfil de ácidos grasos más saludable. En el contenido de antioxidantes liposolubles en la leche de acuerdo con la presencia o no de pastoreo, no se observaron diferencias significativas en la vitamina A, sin embargo, se observaron diferencias muy marcadas en la vitamina E, las xantofilas y -Carotenos. A nivel de dieta, la leche de las vacas estabuladas tuvo más proporción de -tocoferol, contrariamente, a la leche de vacas con pastoreo que mostró diferencias significativas en cuanto a luteína y -criptoxantina, con lo que podemos establecer que la presencia del pastoreo en la alimentación de las vacas influye directamente en el aumento de la proporción

de los antioxidantes. En la capacidad para diferenciar la influencia de la inclusión en la dieta, con o sin pastoreo, de diferentes tipos de ensilados (raigrás, haba forrajera y guisantes) de los microARN de la fracción grasa y de las células de la leche no se observó ningún efecto de diferenciación significativo de la dieta en ninguno de los microARN estudiados en la fracción de la grasa, sin embargo, en presencia o no de pastoreo, el bta-mir451 es capaz de diferenciar entre tratamientos en estabulación o pastoreo. De igual manera, diferencias significativas se observaron entre dietas y en las vacas en pastoreo, con una mayor proporción del bta-mir451 en los tratamientos con pastoreo y diferencias significativas del bta-mir103 y bta-mir155 al comparar la leche de las vacas en pastoreo con la leche de las vacas en estabulación ($p < 0,01$).

Mediante el presente trabajo, se ha demostrado que la modificación de la composición de la leche está asociada al sistema de alimentación y que el uso de leguminosas como el haba forrajera y los guisantes son alternativas viables al raigrás italiano, que resultan más sostenibles para el medio ambiente al reducir el uso de insumos, por su capacidad fijadora de nitrógeno, y como fuente proteica para la alimentación del ganado, al mismo tiempo que son capaces de modificar el perfil de ácidos grasos y antioxidantes liposolubles de la leche, haciendo de ésta un producto más saludable para los consumidores. A su vez, la presencia de la práctica de pastoreo en la alimentación influye directamente en la composición de la leche, mejorando su perfil de ácidos grasos y antioxidantes y aumentando la expresión del bta-mir451. ■

Publicaciones

LIBROS



El avellano en Asturias: diversidad genética local y guía para su cultivo y recuperación

Ana Campa
Mercé Rovira
Juan José Ferreira

Depósito Legal: AS 1419-2020

Año: 2020

Edita: SERIDA, Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial
[Online] <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=8121>

El libro reúne y describe los resultados obtenidos en los últimos años, en la conservación y caracterización de la diversidad genética local de variedades de avellano recolectadas en Asturias y mantenidas en la colección del SERIDA. Asimismo, proporciona datos sobre las características, diferencias y comportamiento de variedades locales de avellano, tanto para la preservación de la diversidad genética local de esta especie, como para el diseño de futuras plantaciones.



Memoria de Actividades del SERIDA 2020

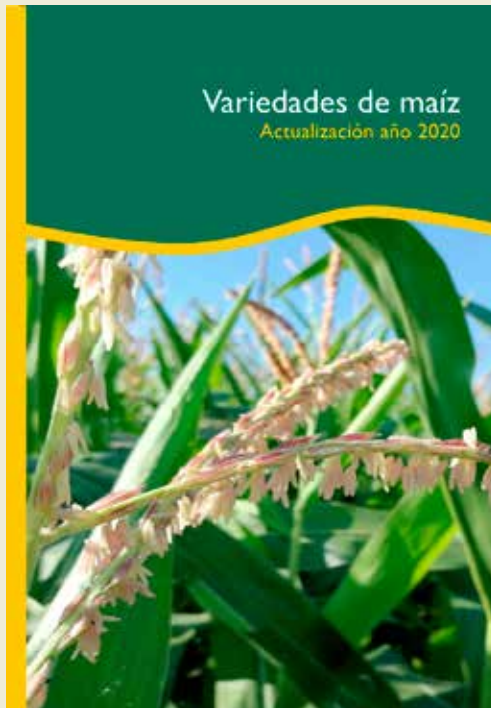
Año: 2021

Edita: SERIDA

[Online] <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=8188>

La Memoria SERIDA 2020 recoge información de los proyectos de I+D+i, de la labor contractual y relacional con otros organismos, agentes, instituciones y empresas, así como de las actividades científicas, técnicas, divulgativas, promocionales y de formación desarrolladas por la entidad durante el año.

FOLLETOS



Variedades de maíz. Actualización año 2020

Alfonso Carballal Samalea
Silvia Baizán González
Consuelo González García
Rocío Rosa García
Adela Martínez Fernández

Año: 2021

Edita: SERIDA, Consejería de Medio Rural y Cohesión Territorial
[Online] <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=8160>

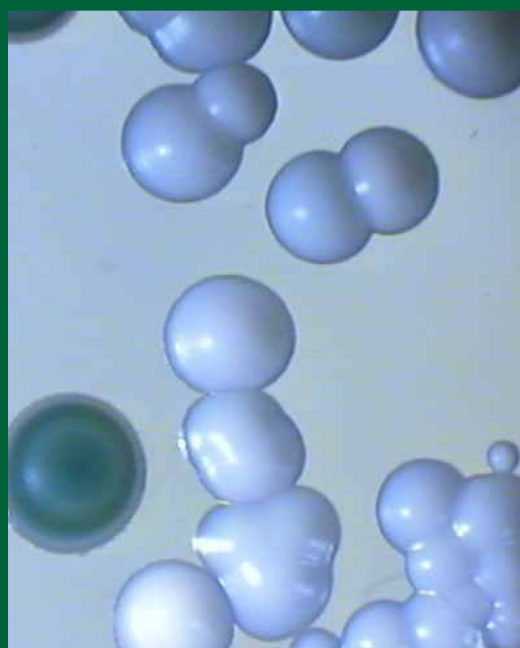
La publicación presenta los datos actualizados de evaluación de variedades de maíz realizadas por el SERIDA, los criterios recomendados para elegir las más adecuadas a cada explotación, así como la metodología empleada en la evaluación de variedades de maíz para silo.

Los resultados se presentan en tres listas para cada una de las cuatro zonas edafoclimáticas de Asturias, que son aptas para el cultivo del maíz forrajero: zona costera occidental, costera oriental, interior alta e interior baja.





INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA AL SERVICIO DEL CAMPO



Investigación agropecuaria, alimentaria y forestal