

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON FLOR DE LÚPULO DE PIENSOS DE CEBO DE CONEJOS EN GRANJAS AFECTADAS POR EEC (ENTEROPATÍA EPIZOÓTICA DEL CONEJO)

I. Grueso, C. de Blas, N. Núñez y P. García-Rebollar
 Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid

INTRODUCCIÓN

El lúpulo (*Humulus lupulus L.*), es una planta de la familia Cannabináceas, cuyas inflorescencias femeninas se emplean para aromatizar y obtener el característico sabor amargo de la cerveza. Estudios recientes han demostrado el interés de la incorporación de flor de lúpulo en alimentación animal por sus efectos antimicrobianos, que podían ser una alternativa natural al empleo de antibióticos en pienso.



OBJETIVOS

El objetivo del presente estudio es evaluar el uso potencial de la flor de lúpulo (500 ppm var. Nugget) en piensos de conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado ensayos de digestibilidad (n=10) y de parámetros productivos (5 ensayos con un total de 1592 gazapos en la fase de cebo), así como un estudio *in vitro* de valoración de la actividad antimicrobiana de la flor de lúpulo frente a *Cl. perfringens*.

Ø Zona Inhibición= 8 mm



Composición Química Piensos (%)

Proteína	15,6
Almidón	13,4
FND soluble	6,3
FND insoluble	33,6

RESULTADOS

PRUEBA DE DIGESTIBILIDAD (%)

	CONTROL	LÚPULO	SEM*	P
FND soluble	67,6	64,4	1,47	0,10
Hemicelulosas	48,5	41,4	1,11	<0,001
PB	69,4	67,0	0,56	0,01

*n=10 por pienso

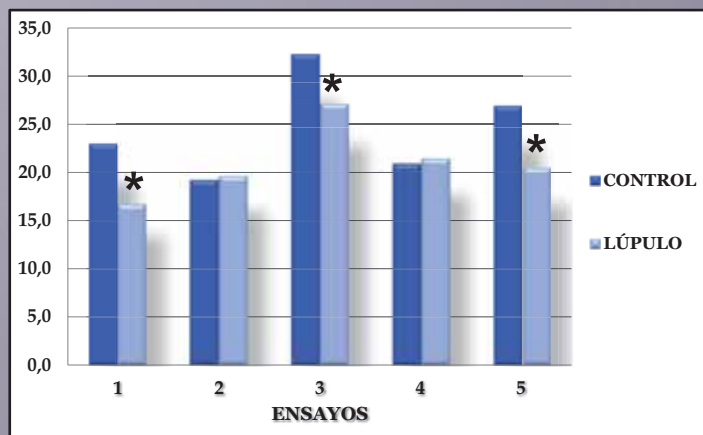
PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

(Jaulas Individuales)

	CONTROL	LÚPULO	SEM *	P
Consumo Total (g/d)	85,0	88,6	1,47	NS
Ganancia Peso Total (g/d)	47,3	47,7	0,72	NS
Eficacia Total (g/g)	0,561	0,541	0,008	0,10

*n=24 por pienso

MORTALIDAD (%)



CONCLUSIONES

- La suplementación de los piensos con 500 ppm de flor de lúpulo redujo la mortalidad en el periodo de cebo cuando los problemas sanitarios por EEC en el grupo control fueron más evidentes, y mostró una actividad antimicrobiana moderada frente a *Cl. perfringens* en ensayos *in vitro*.
- Se observó también una disminución general de la digestibilidad de todos los nutrientes, especialmente de los correspondientes a la fracción fibrosa.
- La inclusión de flor de lúpulo tuvo poco efecto en los parámetros de crecimiento aunque se apreció una ligera tendencia a disminuir la eficacia alimenticia en el periodo de cebo.

Resultados efectivos pero se recomienda la realización de más estudios utilizando niveles más elevados de suplementación.

EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DE ALMIDÓN POR FIBRA SOLUBLE SOBRE LA EFICACIA DIGESTIVA Y LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN GRANJAS AFECTADAS POR EEC (ENTEROPATÍA EPIZOÓTICA DEL CONEJO)

I. Grueso, C. de Blas, C. Rodríguez, A. Caídas y P. García-Rebollar

Departamento de Producción Animal. Universidad Politécnica de Madrid

INTRODUCCIÓN

La fibra soluble constituye en conejos el principal sustrato digestivo para promover el crecimiento microbiano. De esta forma, su inclusión en la dieta podría estimular la proliferación de flora saprófita y los mecanismos de exclusión competitiva de flora patógena. También se ha relacionado con cambios en el medio cecal (pH más bajo y concentración de AGV altos), que han demostrado ser efectivos para controlar el crecimiento de patógenos en ensayos in vitro.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la inclusión de fibra soluble en sustitución de almidón en piensos de conejos con un nivel suficiente de fibra insoluble sobre la eficacia de utilización del alimento, los parámetros de crecimiento y la mortalidad de conejos en cebo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado ensayos de digestibilidad (n=10), de producción y composición de cecótrofos (n=20), conteos de *Cl. perfringens* en cecótrofos (n=64) y de parámetros productivos (5 ensayos con un total de 1592 gazapos en la fase de cebo).

Composición Química de los Piensos (%)

	BAJA FS	ALTA FS
Almidón	15,9	10,9
FND insoluble	34,2	33,0
FND soluble ²	6,0	8,4
Fibra dig. Total	12,2	24,4

² FDT-FNDc (cenizas y PB)



RESULTADOS

PRUEBA DE DIGESTIBILIDAD (%)

	BAJA FS	ALTA FS	SEM*	P
FND soluble	61,6	70,5	1,47	<0,001
Hemicelulosas	40,7	49,4	1,27	<0,001
Celulosa	13,4	25,0	1,85	<0,001

*n=10 por pienso

PRUEBA DE CECÓTROFOS

	n	BAJA FS	ALTA FS	SEM*	P
pH Cecótrofos	30	5,9	5,75	0,03	0,005
Reciclado de PB cecótrofos (g/d)	20	4,36	5,4	0,30	0,05
<i>Cl.perfringens</i> (log ufc/g)	64	3,13	2,58	0,17	0,08

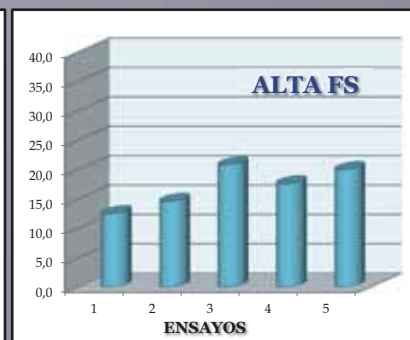
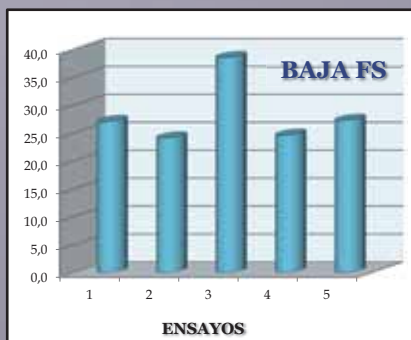
PARÁMETROS DE CRECIMIENTO

(Jaulas Individuales)

	BAJA FS	ALTA FS	SEM *	P
Consumo Total (g/d)	89,0	84,5	1,47	0,05
Ganancia Peso Total (g/d)	48,0	47,1	0,72	NS
Eficacia Total (g/g)	0,543	0,558	0,008	NS

*n=24 por pienso

MORTALIDAD (%)



CONCLUSIONES

- La inclusión de fibra digestible en los piensos en sustitución del almidón dio lugar en el conjunto de los 5 ensayos a una reducción consistente (P<0,001) en la incidencia de mortalidad en el conjunto del periodo cebo en granjas afectadas por EEC.
- La adición de fibra soluble incrementó la digestibilidad de la fibra (P<0,001) y la acidez del contenido cecal (P<0,01) y redujo (P=0,08) la concentración de *Cl. perfringens* en cecótrofos.
- La incorporación de fibra soluble redujo (P=0,05) el consumo de pienso pero no afectó la eficacia alimenticia.

Correlación entre la digestibilidad *in vitro* e *in vivo* de la fibra en conejos

Abad R., Delgado R., El Abed N., Gómez-Conde M.S., Carabaño R., García J.

Departamento de Producción Animal
E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid

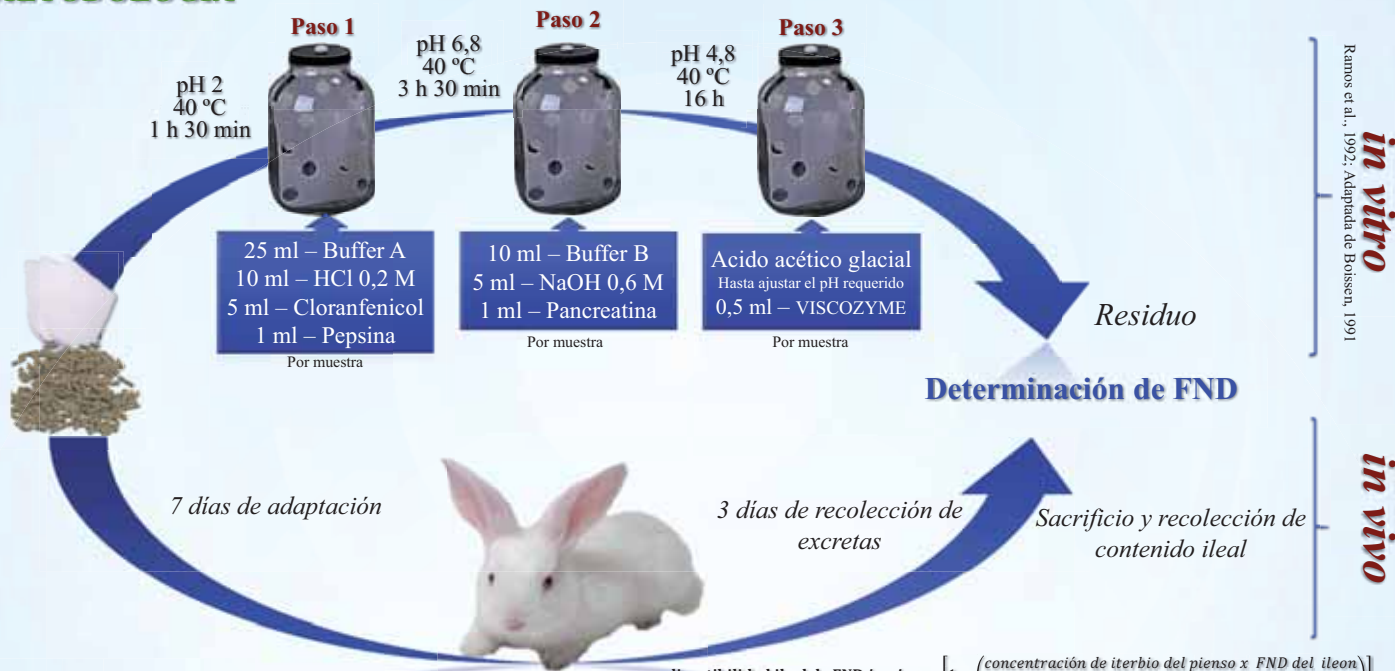
MENSAJE

¿La degradabilidad de la FND *in vitro* puede ser utilizada para estimar la digestibilidad de la misma *in vivo*, tanto a nivel ileal como fecal?

INTRODUCCIÓN

La digestibilidad *in vitro* de la MS ha demostrado ser una buena herramienta para predecir el valor nutricional de las materias primas. Sin embargo, su potencial uso en la estimación de la digestibilidad de la fibra no ha sido evaluado.

METODOLOGÍA



Dietas analizadas

FIBRA	EXPERIMENTO 1				EXPERIMENTO 2		
	A	B	C	D	E	F	G
FDT	34,4	39,8	40,0	35,4	41,4	40,9	43,5
FND _{mo}	32,3	32,7	33,0	32,9	36,3	34,4	32,3
FS	3,03	8,20	8,23	4,22	8,43	10,3	14,6

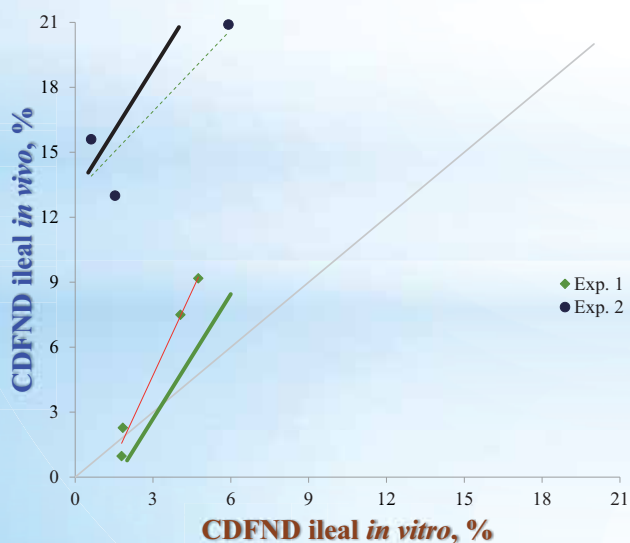
FDT: Fibra dietética total, FND_{mo}: Fibra neutro detergente libre de cenizas, FS: Fibra soluble calculada entre FDT-FND_{mo-pb}

$$\text{digestibilidad ileal de FND in vivo} = \left[1 - \left(\frac{\text{concentración de iterbio del pienso} \times \text{FND del ileon}}{\text{concentración de iterbio del ileon} \times \text{FND del pienso}} \right) \right]$$

$$\text{digestibilidad fecal de FND in vivo} = \left[1 - \left(\frac{\text{Excreción de MS} \times \text{FND de las heces}}{\text{Ingestión de MS} \times \text{FND del pienso}} \right) \right]$$

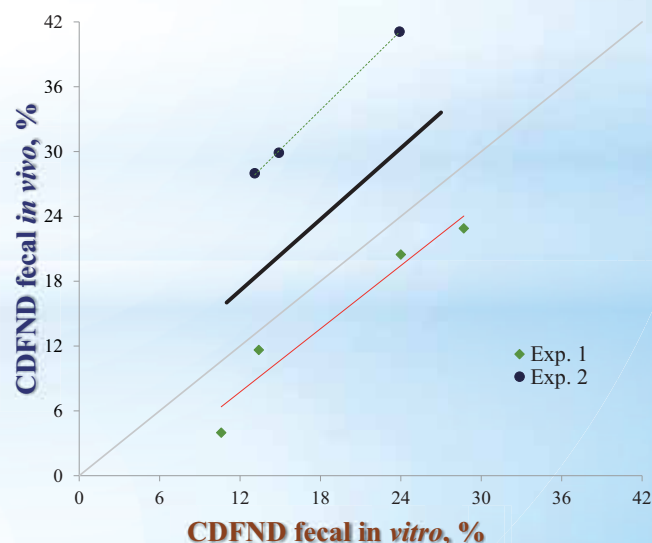
$$\text{digestibilidad de FND in vitro} = \left[1 - \left(\frac{\text{Residuo} \times \text{FND del residuo}}{100 \times \text{FND del pienso}} \right) \right]$$

RESULTADOS



$$\text{CDFND}_{\text{ileal in vivo}} = -3,07 (\pm 2,08) + 1,92 (\pm 0,37) \text{CDFND}_{\text{ileal in vitro}}$$

$P=0,03$ Pendiente $\neq 1$ ($P < 0,001$)



$$\text{CDFND}_{\text{fecal in vivo}} = 3,92 (\pm 2,85) + 1,10 (\pm 0,15) \text{CDFND}_{\text{fecal in vitro}}$$

$P=0,26$ Pendiente = 1 ($P > 0,10$)

CONCLUSIÓN

La digestibilidad fecal *in vitro* de la FND puede estimar correctamente las diferencias existentes en su digestibilidad *in vivo*, sin embargo, esto no sucede a nivel ileal.



INFLUENCIA DE LA COMPOSICIÓN, PRESENTACIÓN Y DURACIÓN DE SUMINISTRO DEL PIENSO PRESTARTER SOBRE LOS RENDIMIENTOS PRODUCTIVOS EN CERDOS IBÉRICOS



J.D. Berrocoso, B. Saldaña, L. Cámara, M.P. Serrano, y G.G. Mateos
Departamento de Producción Animal
E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid

INTRODUCCIÓN

Cerdos Ibéricos vs. cerdos blancos

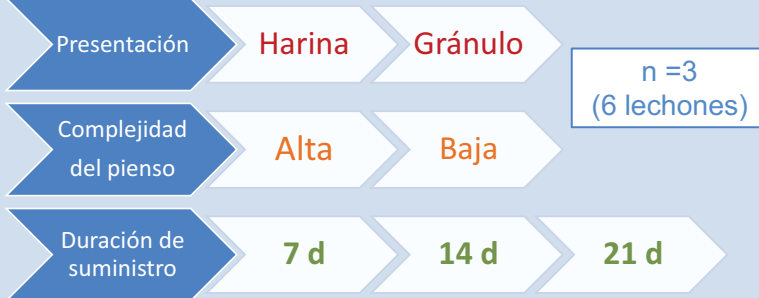
- Menor crecimiento → Menores necesidades en aminoácidos.
- Mayor deposición de grasa.
- No se precisa potenciar el crecimiento a edades tempranas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales: 216 lechones (IB x Duroc), 28 d de edad.

Diseño Experimental: Factorial 2x2x3.

Pienso prestarter:



Pienso común hasta los 63 d de edad.

Dietas experimentales:

Prestárter:

	Alta	Baja
Ingredientes, %		
Cereales	27,0	47,0
Maíz procesado por calor	30,0	15,0
Haba de soja extrusionada	8,0	4,0
Harina de soja, 47% PB	5,1	16,0
Harina de pescado, 67% PB	8,0	4,0
Lactosuero	12,0	6,0
Concentrado proteína soja, 64% PB	4,0	-
Grasas de origen animal	2,3	3,8
Otros	3,6	4,2
Análisis calculado, %		
Energía neta (Kcal/Kg)	2.580	2.580
Proteína bruta	20,6	18,5
Lisina total	1,49	1,20

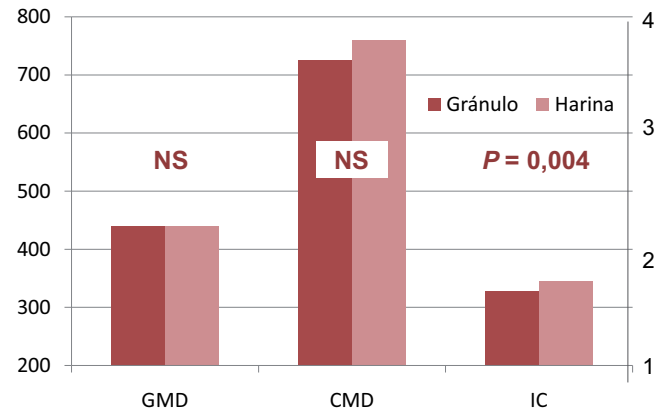
Estárter: Pienso común en harina, basada en cereales sin procesar y harina de soja.

CONCLUSIONES

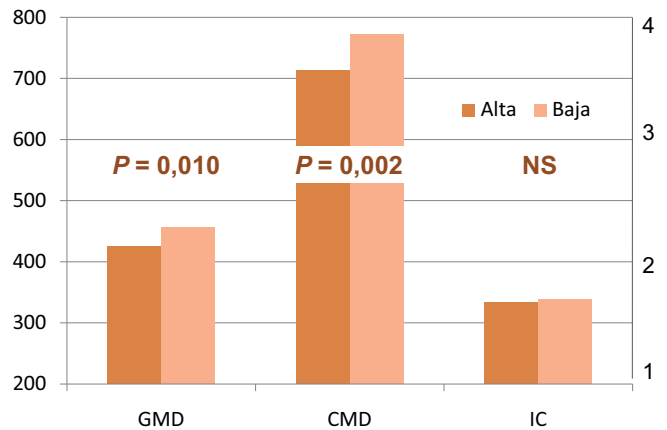
- ❖ Las dietas de alta complejidad no afectaron a los rendimientos productivos.
- ❖ La granulación mejoró el IC con respecto a la harina.
- ❖ Un incremento de la duración del suministro del pienso prestarter a 21 d mejoró el IC pero empeoró el CMD y la GMD.

RESULTADOS (28-63 d de edad)

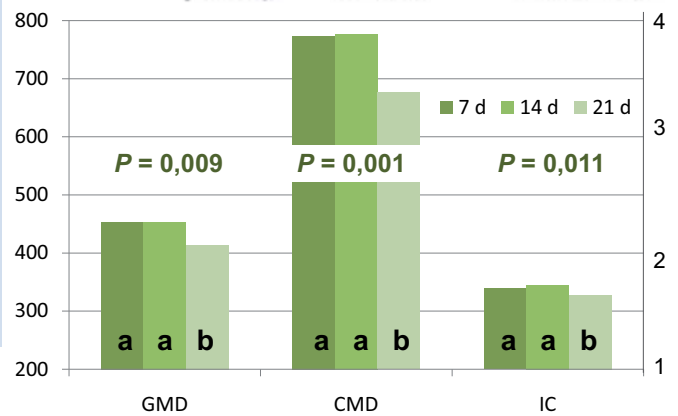
Efecto principal: Presentación



Efecto principal: Composición



Efecto principal: Duración del suministro



SEM (n=3): 18,9 29,4 0,014

IMPLICACIONES

Se recomienda el uso de pienso prestarter con **bajo** porcentaje de ingredientes sofisticados en forma de **gránulo** en cerdos ibéricos, pero sólo durante **7 d** tras el destete.



Influencia de la concentración de energía neta de la dieta sobre los rendimientos productivos y la calidad de la canal y de la carne de hembras enteras, machos enteros y machos inmunocastrados sacrificados a 119 kg de peso vivo



M. Romero, L. Cámara, M.P. Serrano y G.G. Mateos

Departamento de Producción Animal
E.T.S.I. Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid
Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid

OBJETIVOS

Estudiar el efecto de la concentración de energía neta de la dieta y el sexo sobre los parámetros productivos y de la calidad de la canal y de la carne en cerdos sacrificados a 119 kg PV.

➤ Controles cada 3 semanas:

- ✓ Consumo de pienso
- ✓ Índice de conversión
- ✓ Ganancia de peso
- ✓ Mortalidad

Controles de calidad de canal y carne

- ✓ Rendimiento de canal
- ✓ Espesor grasa:
 - P2 → Entre 3ª y 4ª últimas costillas
 - m. *Gluteus medius*
- ✓ Composición del m. *Longissimus dorsi*:
 - GIM.
 - PB.
 - Humedad

MATERIAL Y MÉTODOS

540 cerdos
(29 a 119 kg PV)

HE
ME
MI

Genética

Geneplus

PIC 410

Tres réplicas/tto

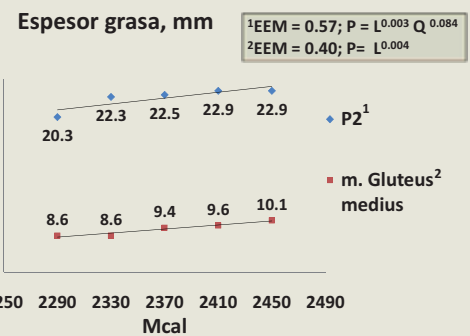
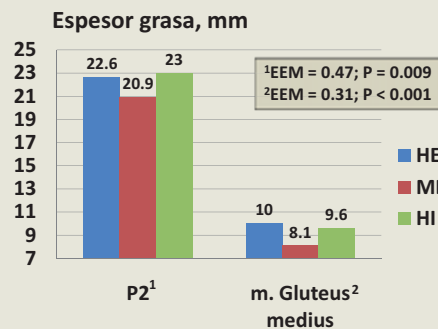
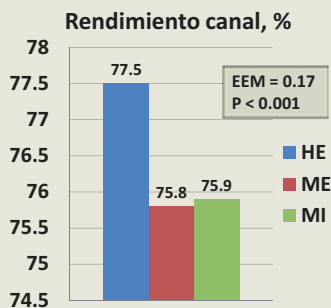
12 cerdos/réplica

5 niveles de EN: 2.290, 2.330, 2.370, 2.410 y 2.450 kcal/kg

RESULTADOS

	Energía neta, kcal/kg ¹					Sexo ¹			Rsd	Probabilidad ²	
	2.290	2.330	2.370	2.410	2.450	HE ³	ME ⁴	MI ⁵		Energía	Sexo
PV a 72 d de edad, kg	28,5	28,4	28,5	28,5	28,4	29,9 ^a	27,7 ^b	27,8 ^b	0,11	0,230	<0,001
PV a 188 d de edad, kg	116,1	115,9	117,4	118,3	118,7	115,8 ^b	116,3 ^{ab}	119,8 ^a	3,62	L ^{0.05}	0,009
CMD, kg	2,02	1,99	2,00	1,97	1,98	1,97 ^b	1,93 ^b	2,07 ^a	0,09749	0,321	0,001
GMD, kg	0,756	0,758	0,773	0,776	0,779	0,741 ^b	0,766 ^b	0,797 ^a	0,02882	L ^{0.046}	< 0,001
IC	2,67	2,63	2,58	2,53	2,54	2,65 ^b	2,52 ^a	2,60 ^b	0,0807	L ^{<0.001}	<0,001
EN ingerida, Mcal/d	4.621	4.638	4.733	4.737	4.850	4.657 ^b	4.580 ^b	4.910 ^a	0,2294	L ^{0.027}	0,001
Eficacia energética, g/Mcal	0,164	0,164	0,163	0,164	0,161	0,159 ^a	0,167 ^a	0,163 ^{ab}	0,005148	0,267	< 0,001

¹9 réplicas por tratamiento para la concentración de energía neta y 15 réplicas por tratamiento para sexo. ²L: efecto lineal. ^{a,b}Medias con superíndice distintos son diferentes (P < 0.05) ³HE: hembras enteras. ⁴ME: machos enteros. ⁵MI: machos inmunocastrados.



CONCLUSIONES

El incremento de la EN del pienso aumentó el consumo energético, la ganancia de peso, el espesor de grasa dorsal y mejoró el IC al final de la prueba. Cambios en la concentración de EN del pienso afectaron por igual a los tres sexos. Los machos inmunocastrados consumieron más pienso, más EN y crecieron más que los machos enteros y los inmunocastrados. El rendimiento canal fue superior en hembras enteras que en machos enteros e inmunocastrados. El espesor de grasa dorsal medido en P2 y en m. *Gluteus medius* de las hembras enteras y de los machos inmunocastrados fue superior al de los machos enteros. El contenido en la grasa intramuscular no se vio afectada ni por la concentración de EN de la dieta ni por el sexo. El uso de un nivel bajo de EN de la dieta (≤ 2.330 - 2.370 kcal/kg) no es recomendable para la producción de cerdos destinados a la industria de productos curados, ya que tiene un efecto negativo sobre los parámetros productivos, el espesor de grasa y la grasa intramuscular, reduciéndose de esta forma la calidad del producto final.

Métodos de Sincronización de Celo en Conejas

Primíparas Lactantes a 25 Días Post-Parto

Sakr O.G.¹, García-García R.M.², Arias-Álvarez M.², Lorenzo P.L.², Millán P.², Velasco B.¹, Rebollar P.G.¹

¹Depto. de Producción Animal, E.T.S.I.A.,UPM. ²Depto. de Fisiología Animal, Fac. de Veterinaria, UCM.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de diferentes métodos de sincronización de celo en el peso vivo, la composición corporal, el consumo de pienso, los parámetros metabólicos, el peso de sus camadas y la actividad del ovario de conejas primíparas lactantes en el día 25 post-parto.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño experimental

60 Lactantes primíparas
Californian x Nueva Zelanda Blanko

grupo
PG
n=12

grupo
eCG
n=12

grupo
BIO
n=12

grupo
PGBIO
n=12

grupo
Control
n=12

2,5 % de propilenglicol (PG) en el agua de 22 a 25 día pp.

25 UI de eCG (i.m.) el día 23 pp.

Separación de la camada el día 24 pp.

Suma de los tratamientos aplicados al grupo PG y al grupo BIO

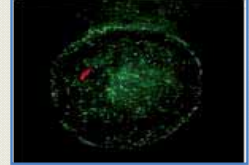
No se les administró ningún tratamiento



1. Peso vivo



3. Composición corporal estimado por impedancia bioeléctrica.



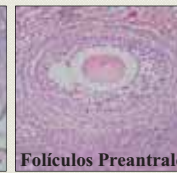
4. Maduración *in vitro* de oocitos:
• Metafase II
• Migración de Gránulos corticales



2. Parámetros metabólicos:
Ácidos grasos no esterificados (AGNE), glucosa y proteínas totales.



Folículos Primarios



Folículos Preantrales

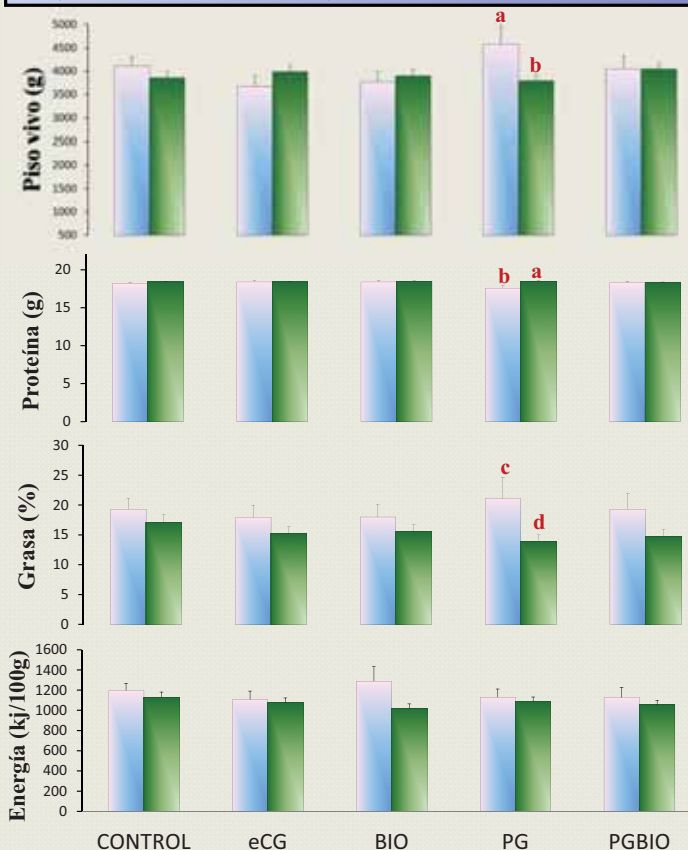


Folículos Antrales

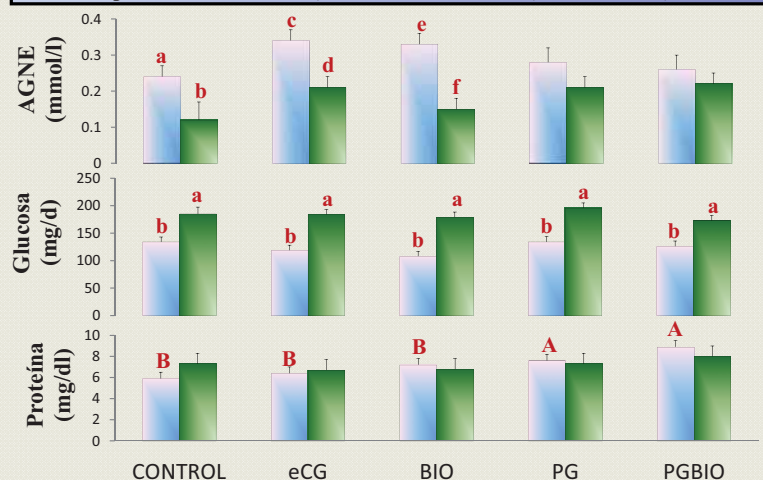
5. Categorización de la población folicular por estudios histológicos de ovarios.

RESULTADOS

Peso y composición corporal de conejas primíparas lactantes desde el día 22 (□) al 25 pp. (■). Letras diferentes muestran diferencias significativas entre días (a, b: P < 0,003; c, d: P = 0,06).



Parámetros séricos de las conejas primíparas lactantes desde el día 22 (□) al 25 pp. (■). Letras diferentes muestran diferencias significativas entre días (a, b: P = 0,06; c, d: p < 0,01; e, f: P < 0,001) o entre tratamientos (A, B: P = 0,06).



Maduración nuclear (metafase II) y citoplásmica (migración de gránulos corticales) de los oocitos de conejas lactantes en el día 25 pp.

	Experimental Groups					P-value
	Control	eCG	BIO	PG	PGBIO	
N° oocitos	92	38	44	50	101	
Metaphase II (%)	66.3	68.4	70.5	78.0	60.4	n.s.
Gránulos corticales (%)						
Completament migrados	11.1	19.0	7.32	16.0	10.0	n.s.
Parcialmente migrados	20.0	23.8	24.4	44.0	20.0	n.s.
No migrados	60.0 ^a	42.9 ^{ab}	60.9 ^a	28.0 ^b	55.0 ^a	0.03
Degenerados	6.67	14.3	7.32	12.0	15.0	n.s.

CONCLUSIONES

Las conejas primíparas lactantes suplementadas con PG tendieron a perder peso y grasa corporal afectándose sólo ligeramente a la maduración citoplásmica de sus oocitos. Ningún método de los estudiados ha determinado una mejora considerable del balance energético ni de la actividad ovárica en día 25 pp para este tipo de conejas.

Financiado por la CICYT (AGL2008-022283) y la Comunidad de Madrid (S2009/AGR-1704)

EFFECT OF DIETARY GRAPE SEED EXTRACT ON CHICKEN INTESTINAL ECOSYSTEM STUDIED BY RFLP



S. CHAMORRO¹, A. VIVEROS², and A. BRENES¹

¹Dpto. Metabolismo y Nutrición, ICTAN-CSIC, Madrid, Spain
²Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense Madrid, Spain



INTRODUCTION

Previous studies have demonstrated that grape phenolic compounds have antimicrobial properties. Because a large fraction of the intestinal community is difficult or not possible to culture, molecular approaches such as Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), has been shown to be a useful tool for the study of diet-associated changes in gut microbial communities.

An experiment was conducted to examine changes on chicken gut microbial ecosystem in response to the addition of a grape seed extract (GSE) in the diet.

MATERIAL AND METHODS

Two similar diets (Control and GSE diets) differing in the addition of GSE (0 and 7.2 g/kg DM) were given to birds (12/diet) for 18 days. GSE contained more than 80% of total polyphenols of which 60% were procyanidols and 0.75% of anthocyanidins.

Caecum content from 2 birds were pooled (6 replicate/diet). Cecal DNA was extracted, purified and subjected to a restriction with HhAI. Plausible community composition was studied using the Microbial Community Analysis (MiCA) web-based tool, to obtain:

Biodiversity degree: Microbial richness, the number of terminal restriction fragments (TRF)

Frequency of detection: % of animals that present a TRF compatible with the presence of a bacterium

RESULTS

Effect of inclusion of grape seed extract on biodiversity degree and frequency of detection (%) of identified, uncultured and unidentified bacteria at caecum in 18 d old chickens.

	Control	GSE	P ⁽¹⁾	
BIODIVERSITY DEGREE, n^oTRF	35.6	43.8	0.03	
FREQUENCY OF DETECTION, %				
Bacterial group	Genus			
Actinobacteria	Nocardiodes	0.00	100	0.001
	Bifidobacterium	16.7	33.3	NS
Bacteroidetes	Flavobacterium	50.0	50.0	NS
Firmicutes	Lactobacillus	50.0	83.3	NS
	Bacillus/Paenibacillus	16.7	83.3	0.02
	Enterococcus	16.7	33.3	NS
	Clostridium	66.7	100	NS
	Desulfotobacterium	33.3	66.7	NS
Proteobacteria	Sphingomonas	50.0	33.3	NS
	Flexibacter	33.3	16.7	NS
	Thiomonas	33.3	33.3	NS
	Pseudomonas	16.7	100	0.003
	Acinetobacter			
	Enterobacter, Citrobacter	33.3	66.7	NS
	Desulfovibrio	33.3	50.0	NS

⁽¹⁾ P<0.05: Significant differences

	TRF, bp ⁽²⁾	Control	GSE	P
Uncultured	78	50.0	50.0	NS
	80	0.00	66.7	0.01
	109	16.7	83.3	0.02
	126	33.3	100	0.01
	137	0.00	50.0	0.05
	148	50.0	0.00	0.05
	265	50.0	83.3	NS
	500	33.3	50.0	NS
	539	0.00	50.0	0.05
Unidentified	77	83.3	16.7	0.02
	121	50.0	33.3	NS
	128	0.00	83.3	0.003
	133	33.3	0.00	NS
	247	0.00	50.0	0.05
	258	50.0	0.00	0.05
	275	16.7	83.3	0.02
	494	33.3	83.3	0.08
	498	0.00	66.7	0.01

⁽²⁾TRF, bp: size (base pairs) of terminal restriction fragment

CONCLUSIONS

Dietary addition of GSE **promoted changes on caecal microbial ecosystem:**

increasing the biodiversity degree

increasing the frequency of detection of several potential phenol degrading bacteria.

affected the presence of uncultured and unidentified bacteria.

Susana Chamorro^{1*}, Agustín Viveros², Carmen Centeno¹, Inmaculada Alvarez¹ and Agustín Brenes¹

¹Dpt. Metabolismo y Nutrición, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN-CSIC), Madrid, Spain

²Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense Madrid, Spain

*email: susana.chamorro@ictan.csic.es

INTRODUCTION

The biological properties of polyphenols depend on its bioavailability. A proportion of polyphenols is digested and absorbed on the small intestine, and another part is fermented by the action of bacterial enzymes in the large intestine^[1]. Despite it being clear that monomers are absorbed there are controversies about the bioavailability of oligomeric forms^[2]. Interactions between polyphenols and proteins have also been reported^[3]. The presence of polyphenolic compounds in diet may have some adverse metabolic effects associated with lower efficiency of nutrients particularly protein, amino acids, inhibition of digestive enzymes and increased excretion of endogenous protein^[4]. Polyphenols bind to protein due to the interaction of their reactive hydroxyl groups with the carbonyl groups of protein. The aim of this study was to investigate the effect of dietary inclusion of grape seed extract (GSE) at different levels (0, 0.25, and 0.50 %) on ileal and fecal apparent digestibility of polyphenols, crude protein (CP) and amino acids (AA) in chickens at 21 d of age.

MATERIAL AND METHODS

Animals: 15 birds /experimental diet. Growth parameters (feed intake and body weight) were also recorded.

Experimental Period: 21 days (from 1 to 21 days old)

Diets	% Grape Seed Extract (GSE)	% Indigestible Marker (Celite)
Control	0	0.10
0.25 GSE	0.25	0.10
0.50 GSE	0.50	0.10

Apparent Fecal digestibility:

Feces (including urine) were collected at 21 days and used to analyse celite and polyphenol content.

Apparent Ileal digestibility:

At 21 days, birds were sacrificed and ileal content from 3 chicks were mixed (5 replicates/treatment) and used to analyse the celite, polyphenol (PP), protein (CP) and amino acid (AA) contents.

GRAPE SEED EXTRACT Extractable polyphenols	mg/100g
Galic Acid (GA)	309
Catechin (C)	771
Epicatechin (EC)	700
Procyanidin dimer B1 (PB1)	835
Procyanidin dimer B2 (PB2)	468
Epicatechin Gallate (ECG)	108
Gallocatechin (GC)	5.91
Epigallocatechin (EGC)	14.1

Chemical analysis:

Celite content: Ashing samples and boiling with 4M HCL.

Extraction of polyphenols: Extraction with Met/H₂O, pH=2 (50:50) and Acetone/H₂O (70:30).

Polyphenol content: HPLC-MS

Crude Protein (Dumas method)

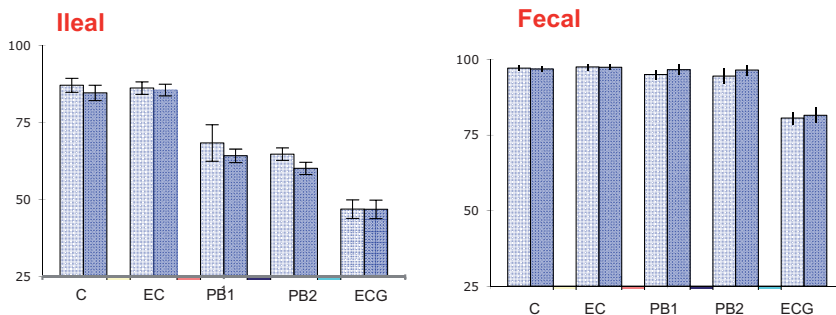
Amino acid content: Hidrolyzing with 6N HCl at 110°C, evaporated and determined in an autoanalyser.

Digestibility calculations

$$\% \text{ Digestibility} = 100\% \left(100 \times \frac{(\text{Celite in feed}) \times (\text{CP or AA or PP in digesta})}{(\text{Celite in digesta}) \times (\text{CP or AA or PP in feed})} \right)$$

RESULTS & CONCLUSIONS

Apparent Digestibility of POLYPHENOLS



- ✓ **No effect of level of GSE** on fecal or ileal apparent digestibility of catechins.
- ✓ At ileum, **monomers are more digestible than dimers**
- ✓ **Non-Galloylated** catechins are **more digestible** than Galloylated
- ✓ **Fecal digestibility was higher than ileal** digestibility indicating that caecal microorganism enhance the digestibility of catechins

%GSE	Apparent Ileal Digestibility, %																		
	Protein	Amino acids																	
		Glu	Pro	Ala	Asp	Thr	Ser	Gly	Cys	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Phe	His	Lys	Arg	
0	84.2 ^a	93.8 ^a	85.6 ^a	79.0 ^b	81.5	78.2	82.0	78.6	74.0	81.7	87.2	83.2	85.0	83.9	85.8	85.0	85.9	87.9	
0.25	85.0 ^a	89.2 ^b	85.0 ^a	89.2 ^a	82.3	79.4	83.1	79.4	74.9	82.2	86.2	83.8	85.6	85.7	86.4	86.6	87.3	90.0	
0.50	82.2 ^b	87.6 ^b	82.7 ^b	88.0 ^b	80.5	77.9	82.0	78.5	74.8	80.7	85.8	82.8	83.9	87.2	84.3	84.8	86.2	88.4	

Dietary supplementation with GSE:

- **Reduced** the apparent ileal **digestibility of glutamic acid** and **increased that of Alanine**.
- At lower doses (up to 0.25 %) did not impair the apparent ileal digestibility of protein. No effect on body weight or feed intake was also observed.
- Further inclusion (0.50%) negatively affected the body weight and the digestibility of the protein and proline.

The use of indigestible markers showed that most of the monomers and dimers of catechins were totally digested at the end of the intestinal tract of chickens. Higher doses of catechins might reduce the digestibility of protein.

LITERATURE CITED

- [1] Manach et al. (2004). *American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- [2] Serra et al. (2009). *British Journal of Nutrition*, 103, 944-952.
- [3] Siebert et al. (1996). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 80-85
- [4] Baxter et al. (1997). *Biochemistry*, 36, 5566-5577.

ACKNOWLEDGMENTS:

The authors wish to thank the Spanish Ministry of Science and Innovation (MICINN, Spain) and Comunidad Autónoma de Madrid (CAM) for financial support of this investigation, Projects AGL2009-07417/GAN and S2009/AGR-1704 (NEWGAN), respectively.

NOVEL PATTERNS OF MUSCLE-SPECIFIC TRANSCRIPTION REGULATION IN CATTLE

N. Moreno-Sánchez¹, J. Rueda², A. Reverter³, M. J. Carabaño¹ and C. Díaz¹

¹Departamento de Mejora Genética Animal, INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria), Ctra. de A Coruña km 7.5, 28040 Madrid, Spain

²Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain

³CSIRO Livestock Industries and Cooperative Research Centre for Beef Genetic Technologies, Queensland Bioscience Precinct, 306 Carmody Rd., St Lucia 4067, QLD, Australia
natalia@inia.es; jrueda@bio.ucm.es; Toni.Reverter-Gomez@csiro.au; mjc@inia.es; cdiaz@inia.es

INTRODUCTION

Variations on the transcriptome from one skeletal muscle type to another still remain unknown. The reliable identification of stable gene coexpression networks is essential to unravel gene functions and define biological processes. The ultimate goal of selection is to fix a set of advantageous genotypes, and this might involve significant changes in the physiology and metabolism of individuals under selection (Cánovas et al. 2010); thus, the putative involvement of genes on the different traits and muscles should be addressed. Moreover, whether gene coexpression and functional relationships among genes are preserved across muscle types must be elucidated.

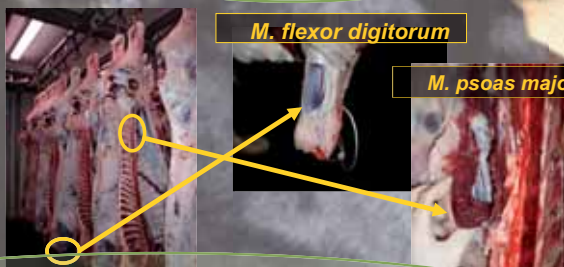
OBJETIVES

To study the differential expression of two phenotypically distinct muscles, *M. flexor digitorum* (FD) and *M. psoas major* (PM), with the aim of illustrating muscle specific transcription patterns and changes in connectivity regarding the expected gene co-expression patterns.

MATERIAL AND METHODS

1. Biological samples

- PM and FD of 19 male calves of Avileña Negra Ibérica
- Aprox. 500 kg and 15 months
- Total RNA isolation



2. Microarray methods

- Fat and muscle bovine cDNA microarray
- 39 slides hybridized following a two connected loops design

3. Data normalization and analysis. Clone annotation

Díaz et al. (2009)

4. Gene Ontology and Enrichment analysis

- David database (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>)
- Gorilla software (<http://cbl-gorilla.cs.technion.ac.il>)

5. System biology analysis

- IPA software (www.ingenuity.com)
- FunCoup (<http://funcoup.sbc.su.se/>)

6. Integration on a bovine coexpression network. Changes in connectivity

- Gene coexpression network for bovine skeletal muscle (Reverter et al., 2006)
- Genes up-regulated in a muscle expected to show null or positive correlations
- Genes up-regulated in different muscles expected to be independently or negatively correlated

RESULTS AND DISCUSSION

Differential expression between skeletal muscles

204 DE genes, 93 up-regulated in PM and 111 in FD

Gene Ontology and Enrichment analysis

- PM clusters: related to glucose
- FD clusters: related to ribosome and muscle fibre
- DE focused on genes related to metabolism, translation and collagen

	PM	FD
PM	1,485 gene correlations 36 % (539) significant correlations mean = 0.519; SD = 0.343 9 % (48) changes in connectivity mean = -0.483; SD = 0.096 GO: Glycolysis/gluconeogenesis	Table Gene correlations within and between muscles. Changes in connectivity and the most enriched GO terms involved in them are also indicated (shaded cells)
FD	4,235 gene correlations 18 % (794) significant correlations mean = -0.105; SD = 0.501 32 % (253) changes in connectivity mean = 0.522; SD = 0.119 GO: Glycolysis/gluconeogenesis Muscle contraction Cytoskeleton/myofibril	2,926 gene correlations 21 % (604) significant correlations mean = 0.233; SD = 0.466 29 % (177) changes in connectivity (mean = -0.469; SD = 0.097) GO: Ribosome/translation Cytoskeleton/myofibril Extracellular matrix

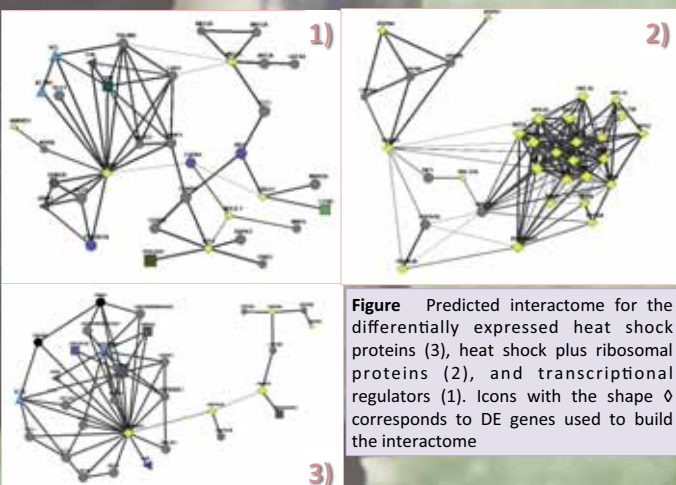


Figure Predicted interactome for the differentially expressed heat shock proteins (3), heat shock plus ribosomal proteins (2), and transcriptional regulators (1). Icons with the shape \diamond corresponds to DE genes used to build the interactome

System biology analysis

Top Canonical Pathways FD

Actin Cytoskeleton Signaling
Hepatic Fibrosis / Hepatic Stellate Cell Activation
Cellular Effects of Sildenafil (Viagra)
Regulation of Actin-based Motility by Rho
RhoA Signaling

Top Canonical Pathways PM

Glycolysis/Gluconeogenesis
Calcium Signaling
Oxidative Phosphorylation
Pentose Phosphate Pathway
Protein Kinase A Signaling

ID Associated Top Network Functions FD

1 Connective Tissue Disorders, Dermatological Diseases and Conditions, Genetic Disorder
2 Genetic Disorder, Skeletal and Muscular Disorders, Ophthalmic Disease
3 Protein Synthesis, Cancer, Gastrointestinal Disease

ID Associated Top Networks Functions PM

1 Skeletal and Muscular System Development and Function, Tissue Morphology, Cancer
2 Embryonic Development, Organ Morphology, Reproductive System Development and Function
3 Genetic Disorder, Neurological Disease, Skeletal and Muscular Disorders
4 Lipid Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistry

CONCLUSIONS

1. Muscle-specific gene expression patterns impacted on metabolism, translation, heat shock proteins and extracellular matrix.
2. Although several basic biological functions were shared between genes upregulated in the two muscles, the networks in which they were organized differed depending on muscle type.
3. Heat shock and ribosomal proteins seem to work in concert and differentially between muscles.
4. Changes in connectivity of gene coexpression were detected between muscles. Mostly, they seem to contribute to the attributes that characterize each specific type of muscle.