



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN RECURSOS Y GESTIÓN SOSTENIBLE

TESIS DOCTORAL

**CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL, LA CARNE Y EL
PERFIL LIPÍDICO INTRAMUSCULAR DE LA RAZA BOVINA MARISMEÑA**

(CHARACTERIZATION OF GROWTH, CARCASS, MEAT AND
INTRAMUSCULAR LIPID PROFILE QUALITY OF THE MARISMEÑA CATTLE BREED)



AUTOR: SERGIO NOGALES BAENA

**DIRECTORAS:
MARÍA ESPERANZA CAMACHO VALLEJO
MARIA CRISTINA BRESSAN**

Fecha: 16 de enero de 2018

TITULO: *CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL,
LA CARNE Y EL PERFIL LIPÍDICO INTRAMUSCULAR DE LA RAZA
BOVINA MARISMENA*

AUTOR: *Sergio Nogales Baena*

© Edita: UCOPress. 2018
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

[https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/
ucopress@uco.es](https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/ucopress@uco.es)



TÍTULO DE LA TESIS: CARACTERIZACIÓN DEL CRECIMIENTO, CALIDAD DE LA CANAL, LA CARNE Y EL PERFIL LIPÍDICO INTRAMUSCULAR DE LA RAZA BOVINA MARISMEÑA

DOCTORANDO/A: SERGIO NOGALES BAENA

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

El doctorando comenzó a colaborar con el grupo de investigación durante los primeros años de carrera. Tras finalizar la licenciatura y el Máster de Zootecnia con perfil investigador, en el año 2009 empezó a desarrollar su labor de investigación sobre el trabajo de tesis que se presenta. El trabajo experimental fue complicado y lento debido a las dificultades para trabajar con la raza sobre la que se desarrolla la tesis y las condiciones en las que se maneja.

Para formarse específicamente en el área de estudio, el doctorando ha realizado estancias y ha desarrollado capacidad de adaptación a los retos que han ido surgiendo durante el proceso.

La tesis ha dado lugar a diversas publicaciones en congresos nacionales e internacionales y artículos en revistas de investigación. Cabe destacar los artículos publicados sobre el perfil lipídico de la carne en *Italian Journal of Animal Science* (Fatty acid profile of feral cattle meat) y la caracterización del crecimiento en *Livestock Science* (A comparison of the growth performance between cattle reared in conventional systems and in feral conditions).

El doctorando ha mostrado una alta capacidad analítica, deductiva, de buen manejo y de buen hacer. Ha mostrado iniciativa tanto en la resolución de problemas como al abordar las nuevas etapas a las que le ha conducido este estudio y conoce las herramientas necesarias para dirigir su propia investigación.

En el desarrollo de la tesis se han llevado a cabo diferentes publicaciones que se listan a continuación:

- Artículos en revistas científicas:
 - Sergio Nogales Baena; Calderón, Juan; Lupi, Teresa Marta; María Cristina Bressan; Juan Vicente Delgado Bermejo; Maria Esperanza Camacho Vallejo. A comparison of the growth performance between cattle reared in conventional systems and in feral conditions. *Livestock Science*. 206, pp. 154 - 160. 2017.
 - Sergio Nogales Baena; Bressan, Maria Cristina; Juan Vicente Delgado Bermejo; Telo Da Gama, Luis; Cecilio Barba Capote; Maria Esperanza Camacho Vallejo. Fatty acid profile of feral cattle meat. *Italian Journal of Animal Science*. 16 - 1, pp. 172 - 184. 2016.

- Sergio Nogales Baena; Lupi, T. M.; José Manuel León Jurado; Arando, A.; María Miró Arias; Juan Vicente Delgado Bermejo; Maria Esperanza Camacho Vallejo. Avances en el estudio de la curva de crecimiento del ganado bovino marismeño. Actas Iberoamericanas de Conservación Animal. 4, pp. 147 - 149. 2014.
 - Sergio Nogales Baena; Maria Esperanza Camacho Vallejo; Juan Vicente Delgado Bermejo; María Cristina Bressan; Vaz A.P. Estudio físico-químico de la carne de la raza bovina Marismeña en diferentes sistemas de terminación. Archivos de zootecnia. pp. 453 - 456. 2011.
 - Maria Esperanza Camacho Vallejo; José Manuel León Jurado; Calderón-Rubiales, Juan; Sergio Nogales Baena; Angel Vallecillo Capilla; María Miró Arias; Juan Vicente Delgado Bermejo. Estudio preliminar de la curva de crecimiento de la raza bobina Marismeña en cebadero convencional. FEAGAS. 35, pp. 68 - 70. 2009.
- Trabajos en congresos:
 - Título: Análisis preliminar de la discriminación de carnes naturales de bovino por su perfil de ácidos grasos Nombre del congreso: XVI Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos. Ciudad de realización: Villavicencio, Colombia. Fecha de realización: 2015. Sergio Nogales Baena; María Cristina Bressan; Lupi, Teresa Marta; Arando, Ander; Juan Vicente Delgado Bermejo; Maria Esperanza Camacho Vallejo.
 - Título: El bovino autóctono marismeño: producción sustentable y ecológica. Nombre del congreso: IV Congreso Nacional De Carne De Vacuno. Fecha de realización: 2012. Sergio Nogales Baena; María Cristina Bressan; Calderón, J.; Juan Vicente Delgado Bermejo; Maria Esperanza Camacho Vallejo.
 - Título: parámetros de calidad en canales de raza bovina Marismeña bajo diferentes sistemas de explotación. Nombre del congreso: Simposio Iberoamericano Sobre Conservación Y Utilización De Recursos Zoogenéticos. Ciudad de realización: Joao Pessoa, Paraíba (Brasil). Fecha de realización: 2010. Sergio Nogales Baena; Asmar-Christian; Calderón-Rubiales, Juan; Ibáñez-Fernando; Hernández-Soledad; Maria Esperanza Camacho Vallejo; Juan Vicente Delgado Bermejo.
 - Título: resultados preliminares en el estudio físico-químico de la carne de la raza bovina Marismeña en diferentes sistemas de terminación. Nombre del congreso: VII Congreso Iberico Sobre Recursos Genéticos Animales. Ciudad de realización: GIJÓN. Fecha de realización: 2010. Sergio Nogales Baena; María Cristina Bressan; Vaz, A.P.; Juan Vicente Delgado Bermejo; Maria esperanza Camacho vallejo.
 - Título: estudio preliminar de la curva de crecimiento de la Raza Bovina Marismeña En Cebadero Convencional. Nombre Del Congreso: X Simposio Iberoamericano Sobre Conservación Y Utilización De Recursos Zoogenéticos. Ciudad de realización: Palmira (Colombia). Fecha de realización: 2009. Maria Esperanza Camacho Vallejo; José Manuel León

Jurado; Calderón-Rubiales, Juan; Sergio Nogales Baena; Ángel Faustino Vallecillo Hernández; María Miró Arias; Juan Vicente Delgado Bermejo.

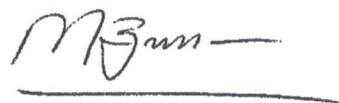
Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 15 de enero de 2018

Firma de las directoras



Fdo.: María Esperanza Camacho Vallejo



Fdo.: Maria Cristina Bressan

A mi madre, porque siempre creyó en mí y me dijo que llegaría donde me lo propusiera. Y a pesar de que ahora no pueda disfrutar de este momento, siempre habrá una parte de ella que me acompañe allá donde llegue. Gracias por todo, mamá.

A mi padre, por haberme demostrado, ahora más que nunca, lo que es el cariño, la paciencia y la constancia.

A Cristina, mi futura esposa, porque sin su apoyo no habría sido posible culminar este trabajo.

ÍNDICE

	<i>Página</i>
ABSTRACT	1
RESUMEN	3
AGRADECIMIENTOS	5
INTRODUCCIÓN	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL BOVINO Y SU DOMESTICACIÓN	12
2. RECURSOS GENÉTICOS Y RAZAS	14
2.1. Recursos genéticos y diversidad genética	14
2.2. Concepto de raza	15
2.3. Clasificación de las razas	16
3. CENSOS Y PRODUCCIONES DE LA GANADERÍA BOVINA EN ESPAÑA Y ANDALUCÍA	19
4. LA RAZA MARISMEÑA	21
4.1. Descripción general	21
4.2. Normativa específica de la raza	22
4.3. Reglamentación específica del libro genealógico y patrón racial	23
4.4. El programa de conservación	25
4.5. Situación actual de la raza y su gestión	26
5. ESPACIO NATURAL DE DOÑANA	30

6. LA ASOCIACIÓN NACIONAL DE CRIADORES DE GANADO MARISMEÑO	35
7. ESTUDIO DEL CRECIMIENTO	38
7.1. Descripción del crecimiento y el uso de modelos no lineales	39
8. CALIDAD DE LA CANAL	41
8.1. Conformación y medidas sobre la canal	41
8.2. Despiece de la canal	43
9. CALIDAD DE LA CARNE	45
9.1. Transformación del músculo en carne	45
9.2. El pH y la calidad de la carne	46
9.3. Color de la carne	46
9.4. Jugosidad - Capacidad de retención de agua	47
9.5. Textura	48
9.6. Composición química de la carne	50
10. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS	51
10.1. Ácidos grasos saturados	51
10.2. Ácidos grasos monoinsaturados	52
10.3. Ácidos grasos polinsaturados	52
10.4. Ácido linoleico conjugado	53
10.5. Factores que afectan el perfil de ácidos grasos en la carne de bovino	53
11. MARCADORES MOLECULARES	56
CAPÍTULO I: A COMPARISON OF THE GROWTH PERFORMANCE BETWEEN CATTLE REARED IN CONVENTIONAL SYSTEMS AND IN FERAL CONDITIONS	57

CAPÍTULO II: CARCASS AND MEAT QUALITY OF A FERAL CATTLE BREED AND ITS RELATION TO POSSIBLE CANDIDATE GENES	75
CAPÍTULO III: FATTY ACID PROFILE OF FERAL CATTLE MEAT	93
CONCLUSIONES	113
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117

ABSTRACT

There is a growing concern about meat products and their quality, both in terms of the nutritional quality and sustainable production associated with the environment. Beef quality labels have been developed and are related to different products, and many of them are linked to local breeds. Marismeña cattle is raised in feral conditions within the Doñana National Park (Southwest Spain) and its meat quality is traditionally appreciated in the area of influence. We aimed to study Marismeña growth curves, carcass and meat quality, the intramuscular lipid profile and some single nucleotide polymorphisms (SNPs) mentioned in the literature as they may be associated to candidate genes. A total of 30 animals (10 males and 20 females) were studied under feral system conditions, and 24 (12 males and 12 females) under intensive system conditions respectively. The biological growth was only assessed for those animals in their natural habit, studying weight records from birth to adult age under feral conditions and testing the fitting of their biological curves to nonlinear models. Same models were used to compare feral vs intensive so-called commercial curves, which measure growth from birth to commercial slaughter age. According to the biological curve parameters, males and females presented asymptotic weights of 641.71 kg and 403.55 kg, respectively. The results of the commercial growth curve severely differed from those of the biological curve. Best performance in feral cattle was found at 7 and 10 months for males and females, respectively, while such best performances were reached at 11 months in intensive system-reared calves, what becomes relevant for management and slaughtering decision-making. Feral animal carcasses showed lower weights and poor yields when compared to those reared under intensive systems and in meat-selected breeds. Meat from feral system animals displayed some significant differences concerning its colour, water holding capacity and intramuscular fat. The higher saturated fatty acids proportion and lower monounsaturated fatty acids proportion in the meat from feral animals are remarkable when compared to those of feedlot meat respectively. Polyunsaturated fatty acids percentage was higher for feral meat, compared to that of feedlot meat, especially the proportion of n-3, which was about 8.5 times higher. The CAPN and CAST genes were found to be related to the fatness score and Warner–Bratzler shear force, respectively. Additionally, the relationship of POMC with cooking loss and carcass extra cuts was also found. The relationships of LEP and SCD were established with some fatty acids and those from certain studies. This research could infer a model to quantify the effects of human management, as feral resources offer unique opportunities to study domestic livestock without any human influence. Our results support the differentiation of Marismeña meat and allow a further study of SNPs as a starting point for their inclusion in the breeding programme in feral conditions by using marker/gene assisted selection.

RESUMEN

Existe una creciente preocupación por los productos cárnicos y su calidad, tanto en términos de la calidad nutricional como en la producción sostenible asociada al medio ambiente. Se han desarrollado marcas de calidad de diferentes productos cárnicos, muchas de ellas vinculadas a razas locales. La raza Marismeña se cría en condiciones asilvestradas dentro del Parque Nacional de Doñana (suroeste de España) y la calidad de su carne es tradicionalmente apreciada en el área de influencia. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las curvas de crecimiento, la calidad de la canal y la carne, el perfil lipídico intramuscular y algunos polimorfismos de nucleótidos simples (SNP) mencionados en la literatura, por su posible asociación a genes candidatos. Se estudiaron un total de 30 animales (10 machos y 20 hembras) en condiciones asilvestradas y 24 (12 machos y 12 hembras) en condiciones de producción intensiva. La curva de crecimiento biológica solo se evaluó para los animales criados en su hábitat natural, utilizando registros de pesos desde el nacimiento hasta la edad adulta y testando el ajuste a modelos no lineales. Los mismos modelos fueron usados para comparar las denominadas curvas comerciales, tanto en el sistema asilvestrado como en el intensivo, las cuales estudian el crecimiento desde el nacimiento hasta la edad comercial de sacrificio. De acuerdo con los parámetros de la curva biológica, los machos y las hembras presentaron pesos asintóticos de 641,71 kg y 403,55 kg, respectivamente. Los resultados de la curva de crecimiento comercial difirieron de los de la curva biológica. La mayor ganancia de peso en el ganado asilvestrado se halló a los 7 y 10 meses para machos y hembras, respectivamente, mientras que los mejores rendimientos se alcanzaron a los 11 meses en los terneros criados en el sistema intensivo, lo que es relevante para la toma de decisiones en la gestión y el envío a matadero de los animales. Las canales provenientes del sistema asilvestrado mostraron menores pesos y rendimientos en comparación con el bovino criado en sistemas intensivos y proveniente de razas seleccionadas para la producción cárnica. La carne de los animales del sistema asilvestrado mostró algunas diferencias significativas en el color, la capacidad de retención de agua y la grasa intramuscular. La mayor proporción de ácidos grasos saturados y la menor proporción de ácidos grasos monoinsaturados en la carne de animales asilvestrados fue significativa en comparación con los de cebadero. El porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados fue mayor para la carne del sistema asilvestrado, especialmente la proporción de n-3 que fue aproximadamente 8,5 veces mayor. Se hallaron relaciones de los genes *CAPN* y *CAST* con el engrasamiento de la canal y la fuerza de cizallamiento (Warner-Bratzler), respectivamente. Además, también se encontró relación del gen *POMC* con la pérdida de peso por cocción y los cortes de la categoría extra de la canal. Las relaciones de *LEP* y *SCD* se establecieron con algunos ácidos grasos y fueron semejantes a otras investigaciones. Este trabajo podría inferir un modelo para cuantificar los efectos del manejo humano, ya que las condiciones asilvestradas ofrecen una oportunidad única para estudiar el ganado doméstico sin la influencia humana. Nuestros resultados respaldan la diferenciación de la carne de

raza Marismeña y sugieren un estudio más profundo de los SNPs, como punto de partida para su inclusión en un programa de mejoramiento en condiciones asilvestradas, mediante el uso de la selección asistida por marcadores/genes.

AGRADECIMIENTOS

Podría decirse que esta tesis comenzó en el año 2008, cuando acababa de terminar la licenciatura en Veterinaria y cansado de tanto “animal” me disponía a dedicarme a otra profesión. Sin embargo, dio la casualidad de que me acerqué al Departamento de Genética a comunicarle a Juan Vicente Delgado que había terminado la carrera, dándose otra casualidad: Juanvi estaba en su despacho en lugar de estar viajando por otro continente. Cuando le comenté lo que me proponía, me habló igual que el padre que ha sido en mi carrera profesional y que espero siga siendo muchos años. No me iría de Córdoba, me matricularía en el Master de Zootecnia y luego haría la tesis. Esa fue su decisión y se la agradeceré el resto de mi vida.

En breve conocí a María Esperanza Camacho, la que ha hecho el papel de madre en mi formación académica. Ella me ha enseñado a ser paciente, a luchar contra las adversidades de cada día y a tener ética, algo muy complicado de comprender y, más si cabe, de aprender. Además, ha sido mi directora y mi amiga. Gracias sinceras.

Luego apareció Maria Cristina Bressan, también directora de esta tesis. No creo que conozca jamás a otra investigadora tan volcada en enseñar y transferir sus conocimientos, con tanto amor por lo que hace y con esa paciencia que la caracteriza. También he de incluir a Luis Gama, porque me ha ayudado como si fuese su doctorando. Ambos me han acogido en su casa cuando ha sido necesario y, además de “obligarme a trabajar duro”, han hecho que mis viajes a Portugal queden siempre como un recuerdo inolvidable.

Sería casi imposible agradecer a todos los que han colaborado en esta tesis, pues han sido casi diez años de dedicación. En el transcurso de este trabajo otros proyectos e investigaciones se han cruzado en su camino, demorado en exceso su término. Sin embargo, no me arrepiento. A lo largo de este trayecto he conocido a grandes personas y pienso que, de alguna u otra forma, todas ellas han colaborado conmigo en esta disertación.

A riesgo de olvidar algunos nombres, quiero transmitir mis agradecimientos a las siguientes personas e instituciones:

A la Estación Biológica de Doñana del Consejo Superior de Investigaciones Científicas y, más en concreto, a Juan Calderón, gran conocedor de la raza Marismeña, por la que sigue luchando a día de hoy. A Fernando Ibáñez, porque sin sus gestiones no habiéramos podido conseguir los animales para la tesis.

A Hermanos Ferrosa, José María y Atanasio, los que acogieron y trataron con los becerros marismeños en su cebadero, ardua tarea. Grandes profesionales y grandes personas.

A COVAP y, particularmente, a Raúl Sanz, porque nos abrió las puertas del matadero y la sala de despiece para poder tomar todos los datos que necesitábamos. También, a los operarios que tuvieron la paciencia de aguantarnos.

A la Estação Zootécnica Nacional de Santarém en Portugal y a todo el personal que allí trabaja, desde el de cocina hasta el investigador. Me trataron siempre como a uno más, e hicieron que los meses que pasé con ellos sean memorables. Especialmente a Ana Paula Vaz Portugal y al Señor Batista por su tiempo y dedicación en enseñarme todo el trabajo de laboratorio.

A la Universidad de Córdoba, porque ha sido mi casa desde el año 2000 y su dedicación por la enseñanza ha conseguido que llegue hasta aquí.

A los compañeros del Departamento, todos han contribuido de muchas formas, directa e indirectamente, en esta investigación. Gracias a Francisco Javier Navas por su ayuda con el inglés y la portada, entre otras muchas cosas.

A la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño en Almonte, Huelva. Porque desde hace unos años forma parte de mi vida laboral y personal, y me ha permitido trabajar gestionando la misma raza sobre la que he realizado esta tesis. Son muchísimas personas las que allí he conocido y con las que he trabajado, pero quiero agradecer específicamente a Gregorio Maraver por la confianza que depositó en mí para sacar adelante los libros genealógicos, a pesar de que yo mismo carecía de ella, y por haberme acogido tantas veces en su casa. A Manuel Chico, porque me ha echado una mano siempre que ha podido y me ha enseñado mucho de lo que sé de Doñana, el ganado y sus ganaderos. Y a mis compañeros Antonio Ramos y Manuela Barragán, porque, a pesar de todo el trabajo que tenemos siempre, somos capaces de reírnos juntos de las adversidades y salir adelante, aunque sea siempre el último día...

A mi familia. Lo que soy y a lo que he llegado se lo debo agradecer a mis padres. Porque lo han dado todo, hasta lo que no han tenido, para que pudiera salir de casa y estudiar lo que yo quería. A mi hermano, porque me ha demostrado que estará ahí cuando lo necesite y por su revisión exhaustiva de los textos en español. Gracias y os quiero.

Y, por último, pero para mí la persona más importante de mi vida, a Cristina, mi amiga, mi compañera y mi futura esposa. Nunca dejaré de repetirte que sin ti jamás hubiera podido acabar esta tesis. Siempre has confiado en que lo haría y me has empujado todo el camino para que llegue a la meta. Te lo agradezco de todo corazón.

INTRODUCCIÓN

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, el cambio climático es ya una realidad innegable que amenaza la estabilidad de todos los países (Delgado, 2011; FAO, 2017b). Se auguran importantes cambios tanto en las zonas costeras como en las interiores debido a la modificación de la temperatura global, lo que afectará en gran medida a la diversidad de especies forestales y animales. Ante semejante desafío, el 25 de septiembre de 2015, 193 estados miembros de las Naciones Unidas adoptaron los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible (PNUD, 2017). En dicho documento se reconoce que el mayor desafío para el mundo actual es la erradicación de la pobreza en todas sus formas y dimensiones. Concretamente, el Objetivo 15 se denomina: “Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar sosteniblemente los bosques, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad”, en el cual pueden incluirse los recursos zoogenéticos y su ligazón con los medios en los que habitan, especialmente las razas de ganado amenazadas.

La FAO (2017c) reconoce que la gran diversidad de recursos genéticos puede parecer redundante, pero que podría ser fundamental para adaptarnos a los cambios que depara el futuro, por lo que debería llevarse a cabo una conservación de los mismos y un uso continuado. Con todo ello, no debe menoscabarse la gestión de la selección y mejoramiento de determinadas razas ganaderas, con vistas a que los países alcancen la seguridad alimentaria.

La importancia de los recursos genéticos ganaderos en la agricultura, la producción alimentaria, el desarrollo rural y el medio ambiente, así como el uso sostenible, el desarrollo y la conservación de los mismos, se puso firmemente de manifiesto en el Plan de Acción Mundial sobre los Recursos Zoogenéticos y la Declaración de Interlaken (FAO, 2007a), aprobados en la primera Conferencia Técnica Internacional sobre los Recursos Zoogenéticos para la Alimentación y la Agricultura, celebrada en Interlaken (Suiza), en septiembre de 2009, y en la que se reunieron 109 países. Este Plan comprende prioridades estratégicas dirigidas a combatir la erosión de la diversidad genética animal y a utilizar de manera sostenible los recursos zoogenéticos. A su vez, en esta declaración, los países reconocieron sus responsabilidades sobre la conservación, la utilización sostenible y el desarrollo de los recursos zoogenéticos para la alimentación y la agricultura.

Sobre la base de los acontecimientos descritos anteriormente, y con el objetivo de regularizar y ordenar el patrimonio genético, en 2008, se publica en España el Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre, por el que se establece el Programa Nacional de Conservación, Mejora y Fomento de las Razas Ganaderas, quedando derogados multitud de textos normativos generados desde 1973. En el anexo I del Real Decreto se incluye el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España, en el cual aparece la raza bovina Marismeña, incluida en el grupo de razas en peligro de extinción. Sin embargo, se espera que durante el año 2018 este Real Decreto sea derogado por uno más novedoso, adaptando la normativa al Reglamento (UE) 2016/1012

del Parlamento Europeo y del Consejo, de 8 de junio de 2016: “Relativo a las condiciones zootécnicas y genealógicas para la cría, el comercio y la entrada en la Unión de animales reproductores de raza pura, porcinos reproductores híbridos y su material reproductivo, y por el que se modifican el Reglamento (UE) nº 652/2014 y las Directivas 89/608/CEE y 90/425/CEE del Consejo y se derogan determinados actos en el ámbito de la cría animal («Reglamento sobre cría animal»)”.

Aunque todo lo anterior pone de relieve la importancia de conservar una raza ganadera, otra parte fundamental es que los propios ganaderos puedan utilizarla como un recurso que les permita sostener económicamente su negocio. En este sentido, se destinan subvenciones desde distintas administraciones y por diferentes vías para la mejora y conservación de las razas autóctonas, aunque no debe ser el pilar en el que se apoye la conservación. El aprovechamiento de la funcionalidad de la raza debe ser prioritario para el mantenimiento de sus censos y la fijación en el territorio, toda vez que, en el caso de las razas en peligro de extinción, éstas suelen estar asociadas a ambientes característicos que son capaces de generar un interés en el consumidor.

Tal es el caso de la raza bovina Marismeña, criada, en su mayoría, en el interior del Espacio Natural de Doñana. El simple hecho de criarla en unas condiciones estrictamente extensivas, en unos pastos totalmente naturales, sin tratamientos agrícolas y con una mínima intervención del ser humano, hace que esta raza y sus producciones sean totalmente atípicas en España como en Europa. Se entiende, pues, que su producto final, la carne, pueda tener un valor agregado para los criadores que sustente, al menos en una parte, la conservación de la raza.

Mencionado lo anterior, cabe destacar la importancia de la caracterización de una raza que vive en condiciones asilvestradas, siendo, hasta donde se conoce, la primera vez que se estudia el bovino en este sistema. Inevitablemente, debe enfatizarse la dificultad de realizar este trabajo por las complicaciones que conlleva el desarrollo experimental en un ganado que se maneja en dos ocasiones puntuales durante el año y sometido a una tremenda presión ambiental y sanitaria, esta última por causas de las incidencias de tuberculosis y el resultado de las campañas de saneamiento a través del programa de erradicación.

El objetivo principal del presente trabajo es caracterizar los productos de la raza bovina Marismeña en sus fases de producción (crecimiento) y *post-mortem* (canal y carne), comparando este mismo grupo genético en su hábitat natural (Parque Nacional de Doñana) y en condiciones de cebo convencional, para poder inferir sobre la magnitud de los efectos del manejo humano. También se trata de proyectar nuestros avances hacia el desarrollo de un programa de selección eficiente en condiciones asilvestradas, tanto desde la genética cuantitativa como desde la asociación de los caracteres funcionales estudiados y algunos marcadores relacionados con genes de acción mayor, candidatos para la selección asistida.

Este objetivo general se divide en objetivos específicos que concuerdan con los capítulos de la tesis doctoral:

1. Estudio del crecimiento de la raza a través de la curva biológica y la curva comercial.
2. Estudio de la calidad de la canal y la carne de la raza y su relación con algunos genes candidatos en la producción cárnica.
3. Estudio del perfil de ácidos grasos de la carne.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DEL BOVINO Y SU DOMESTICACIÓN

La raza bovina Marismeña se encuadra en la taxonomía de la siguiente forma (Wilson and Reeder, 2005):

- Dominio: *Eukaryota*.
- Reino: *Animalia*.
- Filo: *Chordata*.
- Clase: *Mammalia*.
- Orden: *Artiodactyla*.
- Familia: *Bovidae*.
- Subfamilia: *Bovinae*.
- Género: *Bos*.
- Especie: *Bos taurus*.

Entre las especies bovinas de interés doméstico puede citarse, además, el *Bos indicus*. Al *Bos primigenius* se le considera el ancestro salvaje del *Bos taurus*, y se le denomina comúnmente como Uro. Según Zeuner (1963), el último de los ejemplares murió en Polonia en 1627.



Figura 1. Pintura rupestre de un Uro salvaje en la cueva de Lascaux, Francia. Fecha estimada: 17.000 años a. C.

No queda clara la contribución del Uro en el ganado bovino actual, pero sí se le refieren características propias de las razas actuales más rústicas, como un importante desarrollo del tercio anterior y un gran tamaño de cuernos. Upadhyay *et al.* (2016), en un estudio sobre la historia, el cruce y el origen genético de

los Uros, concluyen que estos bovinos salvajes han contribuido en la composición genómica de la especie actual.

La domesticación del ganado vacuno se sitúa, según la literatura, en el Cercano Oriente y entre el 10 500 y 10 000 a. C. (Vigne, 2011), ligada a un incipiente uso del cereal y las leguminosas en la agricultura. Más tarde, el ganado se iría difundiendo por toda Europa junto con los movimientos migratorios de los primeros ganaderos (Upadhyay *et al.*, 2016). Sin embargo, la domesticación del ganado bovino comenzó una segunda vez en la zona que hoy día ocupa Pakistán, con una subespecie denominada *Bos primigenius nomadicus*. Incluso se debate sobre un inicio paralelo de la domesticación en el norte de China alrededor de 10 500 a. C. (Zhang *et al.*, 2013).

2. RECURSOS GENÉTICOS Y RAZAS

2.1. Recursos genéticos y diversidad genética

La importancia de conservar y regular las razas se basa en el mantenimiento de la diversidad genética, entre y dentro de las especies, dado que esa variabilidad permite seleccionar, con el objeto de adaptar las razas a los cambios en las condiciones climáticas, la aparición de nuevas enfermedades, variaciones en los mercados, nuevos descubrimientos y/o multitud de cambios imprevisibles que se desconocen hoy día. Además, en la mayoría de los casos, las razas forman parte del patrimonio cultural e histórico de las naciones, por lo que su conservación debería ser considerada de forma global. A ello debe añadirse el importante papel de las razas autóctonas en la fijación de la población a las zonas rurales, ya que generan empleo y riqueza en medios pobres, en los que no es posible la implantación de la ganadería intensiva, más, si cabe, en países en vías de desarrollo (FAO, 2007b).

Por todo lo anterior, la FAO (2007a), a través del Plan de Acción Mundial sobre los Recursos Zoogenéticos, establece cuatro áreas estratégicas prioritarias:

- Área estratégica prioritaria 1 - Caracterización, inventario y seguimiento de los riesgos asociados y las tendencias: Medidas que proporcionan un planteamiento coherente, eficiente y eficaz para la clasificación de los recursos zoogenéticos, así como la evaluación de las tendencias y riesgos en relación con los recursos zoogenéticos.
- Área estratégica prioritaria 2 - Utilización sostenible y desarrollo: Medidas destinadas a garantizar la sostenibilidad en los sistemas de producción animal, con especial atención a la seguridad alimentaria y al desarrollo rural.
- Área estratégica prioritaria 3 - Conservación: Medidas necesarias para preservar la diversidad y la integridad genéticas, en beneficio de las generaciones presentes y futuras.
- Área estratégica prioritaria 4 - Políticas, instituciones y creación de capacidad: Medidas que abordan directamente las cuestiones clave de la realización práctica a través del fomento coherente y en sinergia de las instituciones y capacidades necesarias.

Para poder establecer este plan de acción, era necesario definir el estado de los recursos genéticos, un inmenso trabajo que la FAO y otras entidades han ido elaborando a lo largo de los años. En 1996, el Grupo de Recursos Genéticos Animales de la FAO puso en marcha una base de datos denominada DAD-IS, disponible en internet. Posteriormente, esta base de datos se fundió, a través del proyecto “The European Farm Animal Biodiversity Information System” (EFABIS), con la base de datos europea de la Asociación Europea para la Producción Animal (EAAP). Actualmente, se encuentra en funcionamiento la tercera versión: DAD-IS:3.

- ↪ DAD-IS es un sistema de información sobre la diversidad de los animales domésticos organizado por la FAO. Se trata de una herramienta de comunicación e información para implementar estrategias para el manejo de los recursos zoogenéticos. Proporciona al usuario bases de datos en las que buscar información e imágenes relacionadas con la raza, herramientas de gestión y una biblioteca de referencias, enlaces y contactos de los coordinadores regionales y nacionales para la gestión de los recursos zoogenéticos. Proporciona a los países un medio seguro para controlar la entrada, la actualización y el acceso a sus datos nacionales (FAO, 2017a).

2.2. Concepto de raza

El concepto de raza ha ido modificándose a lo largo de la historia, por lo que se torna complicada la tarea de ofrecer una sola definición que explique lo que supone para la sociedad una raza ganadera.

- ↪ Según Sierra (2001), raza es un “concepto técnico-científico, identificador y diferenciador de un grupo de animales, a través de una serie de características (morfológicas, productivas, psicológicas, de adaptación, etc.) que son transmisibles a la descendencia, manteniendo por otra parte una cierta variabilidad y dinámica evolutiva”
- ↪ Según la FAO (2007b), la raza se define como: “o bien un grupo subespecífico de ganado doméstico con características externas definibles e identificables que permiten separarlo por inspección visual de otros grupos definidos de manera semejante dentro de la misma especie, o bien un grupo cuya separación geográfica y/o cultural de grupos fenotípicamente similares ha llevado a aceptar su identidad separada”.

Son definiciones parecidas, pero con enormes diferencias. Por un lado, la definición de Sierra, tiene un enfoque técnico-científico; mientras que la de la FAO añade el aspecto geográfico y cultural de las razas, fundamental para entender el valor de las mismas en el desarrollo sostenible de las naciones.

- ↪ No debe obviarse otro tipo de definición de suma importancia en la actualidad, la que ofrece la normativa. Como se mencionaba en la introducción, en el año 2016 se aprueba el Reglamento (UE) 2016/1012 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 8 de junio de 2016, relativo a las condiciones zootécnicas y genealógicas para la cría, el comercio y la entrada en la Unión de animales reproductores de raza pura, porcinos reproductores híbridos y su material reproductivo, y por el que se modifican el Reglamento (UE) nº 652/2014 y las Directivas 89/608/CEE y 90/425/CEE del Consejo y se derogan determinados actos en el ámbito de la cría animal («Reglamento sobre cría animal»). En el artículo 2 (definiciones), punto 2, se define raza como: “población de animales suficientemente uniforme como para que se la pueda considerar diferente de otros animales de la misma especie por una o varias agrupaciones de criadores que hayan acordado inscribir dichos animales en libros genealógicos con indicación de sus ascendientes conocidos, a fin de perpetuar

sus características heredadas a través de la reproducción, el intercambio y la selección en el marco de un programa de cría”.

Aquí se incluyen nuevos términos a la definición de raza, como “agrupación de criadores”, “libro genealógico” y “programa de cría”. Con vistas a aclarar dichos conceptos se exponen a continuación sus definiciones según el Reglamento:

- ↪ Sociedad de criadores de razas puras: “toda asociación u organización de criadores u organismo público distinto de las autoridades competentes, que haya sido reconocido por la autoridad competente de un Estado miembro con la finalidad de llevar a cabo un programa de cría en animales reproductores de raza pura inscritos en el libro o libros genealógicos que lleve o cree”.
- ↪ Libro genealógico: “todo libro, archivo o sistema informático llevado por una sociedad de criadores de razas puras, consistente en una sección principal y, cuando la sociedad de criadores de razas puras así lo decida, en una o más secciones anexas para animales de la misma especie que no son inscribibles en la sección principal”.
- ↪ Programa de cría: “un conjunto de actuaciones sistematizadas, entre las que se incluye el registro, selección, cría e intercambio de animales reproductores y de su material reproductivo, diseñadas y aplicadas para conservar o mejorar las características fenotípicas y/o genotípicas deseadas en la población reproductora objetivo”.

2.3. Clasificación de las razas

Las razas pueden clasificarse según su estado de peligro (FAO, 2007b):

- Extinta: Se clasifica como extinta una raza de la que no quedan machos reproductores o hembras reproductoras. Sin embargo, el material genético puede haberse crioconservado, hecho que permitiría la regeneración de la raza. En realidad, la extinción puede haberse producido mucho antes de que se pierda el último animal o material genético de la raza en cuestión.
- Situación crítica: Se clasifica como raza en situación crítica aquella en la que el número de hembras reproductoras sea inferior o igual a 100 o el número total de machos reproductores sea inferior o igual a 5; o bien, el tamaño total de la población sea inferior o igual a 120 y se halle en disminución y el porcentaje entre hembras y machos de la misma raza que crían sea inferior al 80 %, y que no esté clasificada como extinta.
- Situación crítica mantenida: Es la de las poblaciones en situación crítica para las que existen programas de conservación en funcionamiento, o las poblaciones que son mantenidas por empresas comerciales o instituciones de investigación.

- En peligro: Se clasifican como razas en peligro aquellas en las que el número total de hembras reproductoras es mayor que 100 y menor o igual a 1 000 o el número total de machos reproductores es menor o igual a 20 y mayor que 5; o bien, el tamaño de la población total es mayor que 80 y menor que 100 y está en aumento y el porcentaje entre hembras y machos de la misma raza que crían es superior al 80 %; o el tamaño de la población total es mayor que 1 000 y menor o igual a 1 200 y está en descenso y el porcentaje entre hembras y machos de la misma raza que crían es inferior al 80 %; y la raza no se ha clasificado en ninguna de las categorías anteriores.
- En peligro mantenida: Se clasifican como poblaciones en peligro mantenidas aquellas que cuentan con programas de conservación en curso o cuyas poblaciones son mantenidas por empresas comerciales o instituciones de investigación.
- Raza en situación de riesgo: Es toda raza clasificada en situación crítica, crítica mantenida, en peligro o en peligro mantenida.

En la normativa europea, según el Reglamento (UE) 817/2004, la clasificación de las razas se basaba en unos umbrales de número de hembras reproductoras, por debajo de los cuales una raza era considerada en peligro de abandono. Para el caso del bovino éste se establecía en 7 500 efectivos. Sin embargo, en el Reglamento (UE) 2016/1012, el concepto de raza en peligro de abandono, o en peligro de extinción según el Real Decreto 2129/20089, ha sido modificado a razas amenazadas, quedando definida como:

- ↪ Raza amenazada: “raza local, reconocida en situación de amenaza por un Estado miembro, genéticamente adaptada a uno o más sistemas de producción o entornos tradicionales de dicho Estado miembro, y cuya situación de amenaza haya sido establecida de forma científica por un organismo dotado de las necesarias competencias y conocimientos en el ámbito de las razas amenazadas”.

Esta definición establece más condiciones que el mero hecho de considerar únicamente los censos de reproductoras. Parece más conveniente que los estados o sus organismos competentes, a través del apoyo de grupos científicos, puedan establecer la consideración de una raza amenazada. El uso exclusivo de una clasificación en base a los censos puede conllevar riesgos para estas poblaciones al no tener en cuenta otras características como la distribución geográfica, zonas de prevalencia de enfermedades, situación económica o de despoblación de las zonas en las que se ubican, así como otros muchos factores que pueden conllevar un riesgo de extinción.

La normativa actual, en el caso de España, según el Real Decreto 2129/2008 mantiene la siguiente clasificación de las razas según su origen y situación:

- Razas Autóctonas Españolas de Fomento y en peligro de extinción. Siendo todas aquellas originadas y desarrolladas en España, que se encuentran en total desarrollo en el primero de los casos y en diferente grado de amenaza en el segundo.
- Razas integradas. Grupo formado por aquellas razas originadas fuera de España pero que llevan entre nosotros más de treinta años y cuentan con estructuras nacionales.
- Razas de la UE. Son razas exóticas de reciente entrada en nuestro país, pero procedentes de nuestros socios comunitarios.
- Razas de Terceros Países. Así mismo son razas exóticas de nueva entrada en España, pero desde países externos a la UE.
- Razas sintéticas. Son razas formadas en España de manera reciente por la fijación de cruces entre razas nacionales o internacionales preexistentes.
- Otros équidos reconocidos. Se trata de razas de équidos abiertas genéticamente, que por tanto reciben múltiples influencias de forma permanente y tan sólo los une su funcionalidad común.

La nueva propuesta simplifica esta estructura, reduciéndolas a tres grupos:

- Razas Autóctonas Españolas de Protección Especial: aglutinando tanto a las de fomento como a las que están en peligro de extinción, o las que el Reglamento europeo denomina como amenazadas.
- Razas integradas y adaptadas localmente en España: asumiendo las de cualquier origen y situación.
- Otras razas reconocidas en España: donde entrarían las sintéticas y las abiertas genéticamente, así como otras categorías que pudieran aparecer.

3. CENSOS Y PRODUCCIONES DE LA GANADERÍA BOVINA EN ESPAÑA Y ANDALUCÍA

El censo bovino español, en el año 2015, era de 6 182 008 cabezas, de las cuales 844 114 eran vacas lecheras y 1 918 661 eran vacas de orientación cárnica. En cuanto a la tendencia de estos censos, hay que decir que, si bien desde el 2008, año de máximo censo, estos venían decreciendo, desde el 2014 se está apreciando un aumento, especialmente en la orientación cárnica, ya que la lechera desciende levemente.

De estas cifras y para ese año 2015, el censo en Andalucía era de 517 716 cabezas bovinas, incluidas todas las categorías de edades, lo que suponía un 8,4% del censo nacional, situándose Andalucía como la quinta comunidad autónoma en censo bovino de España, tras Castilla y León (21,6%), Galicia (15,4%), Extremadura (13,1%) y Cataluña (9,8%).

De este censo total andaluz, solo el 10,89% (56 3575 cabezas mayores de 24 meses) correspondía a vacas lecheras y el 39,61% (205 049 cabezas mayores de 24 meses) a vacas de orientación cárnica. La tabla 1 Muestra la desagregación provincial de estos datos.

Centrándonos en el vacuno de carne, en 2016 el censo se incrementó un 1.2%, siguiendo la tendencia de toda Europa, donde España ocupa el quinto puesto en producción bovina cárnica tras países como Francia, Reino Unido, Alemania e Italia. El vacuno de carne supone el 6% de la Producción Final Agraria (PFA) de España, ocupando el cuarto puesto ganadero en importancia económica tras los sectores porcino, lácteo y avícola, con más de 2 700 millones de euros en valor económico, y representando el 17,1% de la Producción Final Ganadera (PFG).

En Andalucía, como se observa en los datos de la tabla 1, las cuatro provincias más occidentales concentran el mayor número de bovinos. Cádiz, con más de 60 000 efectivos de vacas nodrizas; más Huelva, Sevilla y Córdoba, con un total de entre 30 000 y 60 000 vacas nodrizas. Esto se ajusta al patrón de distribución de los bovinos por la zona occidental de España, y se superpone, así, a la zona de distribución de mayor presencia de la dehesa, además de las zonas cantábricas y pirenaicas.

Tabla 1. Censos de vacuno por provincias en la comunidad autónoma de Andalucía en el año 2015

Territorio	Censo total vacuno*	Vacas lecheras**	Vacas no lecheras**
Almería	2 304	356	100
Cádiz	136 169	5 777	64 377
Córdoba	145 209	33 699	43 029
Granada	21 592	4 757	5 286
Huelva	62 161	22	34 229
Jaén	29 821	2 471	11 712
Málaga	14 508	1 294	5 619
Sevilla	105 952	7 981	40 697
Andalucía	517 716	56 357	205 049

*Todas las categorías de edades. **Solo se refiere a datos de vacas mayores de 24 meses.

Por otro lado, en cuanto a la producción certificada de carne ecológica, en 2015 se produjeron 18 072 toneladas, un 19,8% más que el año previo, lo que supone el 2,9% del total de carne de vacuno. Andalucía generó el mayor volumen, el 79,1% de esta carne obtenida en España, seguida de Extremadura con el 7,9%. Respecto a las 10 Indicaciones Geográficas Protegidas (IGP) de carne bovina que existen en el país, las de mayor volumen de producción se corresponden con las ubicadas en el norte de la península: Ternera Gallega (54,8%) y Ternera Asturiana (16,6%).

El 47% de las importaciones de 2016 correspondieron a carne fresca. El 37%, a animales vivos. El 12% fue carne congelada, y los productos menos importados fueron los despojos y la carne salada, seca, ahumada o en salmuera, con menos del 4%. Las exportaciones tienen una distribución similar, siendo la carne fresca el producto más exportado, con el 49%, seguido por los animales vivos con el 30%, la carne congelada con el 14% y finalmente los despojos con el 7%.

Los datos han sido consultados en informes emitidos por la Subdirección General de Estadística (2015) y la Subdirección General de Productos Ganaderos (2016).

4. LA RAZA MARISMEÑA

4.1. Descripción general

La raza Marismeña está considerada un antiquísimo núcleo de bovinos autóctonos perfectamente diferenciados dentro del ganado vacuno español e históricamente adscrito al Espacio Natural de Doñana, encuadrado en las Marismas del Guadalquivir, en el suroeste de la Península Ibérica (León *et al.*, 2009).

Su relación con la zona geográfica donde habita ya aparece referenciada en el siglo XIII, en el cual se reconoce la existencia de ganado en las marismas del Guadalquivir (Calderón, 2008). Además, se presume que este núcleo de animales tuvo una importante influencia en la colonización del continente americano, al ser enviada en las expediciones que partían de los puertos de Palos y Sevilla hacia “El Nuevo Mundo” (Rodero *et al.*, 1992; Martínez *et al.*, 2005).



Figura 2. Animales de la raza bovina Marismeña en el Parque Nacional.

Su explotación ofrece gran semejanza con el régimen de vida de los ungulados con los que convive en Doñana. Cualitativamente, desempeña un importante papel en el orden ecológico y medioambiental como agente conservador del Espacio Natural. Suele organizarse en grupos reducidos en aquellas fincas en las que pasta. Estos grupos se denominan “tropas” y suelen moverse en conjunto hacia las zonas de agua y comida durante el día. La reproducción se lleva a cabo mediante monta natural no dirigida.



Figura 3. Animales de la raza bovina Marismeña pertenecientes a la Estación Biológica de Doñana en la zona de la Reserva.

4.2. Normativa específica de la raza

Actualmente, la raza está catalogada como raza autóctona en peligro de extinción, según el Anexo I del Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre. Además, la Resolución de 21 de abril de 2005, de la Dirección General de la Producción Agraria de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, reconoce a la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño para la gestión y llevanza del libro genealógico de la raza bovina Marismeña. Así mismo, la Resolución de 26 de enero de 2012, de la Dirección General de la Producción Agrícola y Ganadera de la Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural de la Junta de Andalucía, aprueba la Reglamentación Específica del Libro Genealógico de la raza bovina Marismeña, de conformidad con lo dispuesto en el Real Decreto 2129/2008, de 26 de diciembre. El programa de conservación actual se aprobó bajo la Resolución de 26 de diciembre de 2012, de la Dirección General de la Producción Agrícola y Ganadera.

4.3. Reglamentación específica del libro genealógico y patrón racial

La Reglamentación Específica del libro genealógico de la raza Marismeña detalla el procedimiento para inscribir animales en el mismo, así como los criterios para poder anotarlos en los diferentes registros del libro, siendo necesaria la filiación por técnicas de ADN y la compatibilidad de los animales nacidos con sus parentales, y estando estos previamente inscritos. La reglamentación define también el prototipo o estándar racial, así como el procedimiento de calificación morfológica que deben pasar los animales para poder ser anotados en los registros del libro.

Según la norma, el patrón racial es el siguiente:

- Cabeza: Pequeña, de testuz despejado, largo y recto. Frente plana o algo excavada y cara larga. Los cuernos son finos, naciendo por encima de la línea del testuz. Se pueden encontrar cuatro tipos de encornaduras dependiendo de la zona geográfica en donde se encuentre el animal, siendo las tres características de la raza y que la definen en su conjunto:
 - Cornalona: cuernos que se dirigen hacia arriba en forma de horquilla, propia de los ejemplares que se encuentran en la Marisma.
 - Corniveleta: cuernos que se dirigen hacia arriba en forma de arco de convexidad externa, dando una imagen de media luna, con los años el crecimiento hace rotar el tercio distal hacia atrás y afuera.
 - Playera: cuernos abiertos y arremangados hacia atrás, propia de los ejemplares que se encuentran en los Montes, que le permite abrirse paso en la vegetación alta de estas zonas.
 - Sin apelativo: cuernos nacidos hacia delante paralelos a la cara y dirigiéndose el extremo distal hacia atrás.

Las encornaduras son de color blanco o nacarado con las puntas levemente sombreadas. Las orejas son grandes y ovales, si bien frecuentemente desfiguradas por las incisiones y mutilaciones del marcado de la propiedad. Ojos a flor de la cara, con iris invariablemente negro intenso. Morro recogido y ligeramente ensombrecido, pero no negro.

- Cuello: Corto, de tabla ancha y abundante papada que cuelga casi hasta las rodillas. El cuello está discretamente enmorrillado en los machos adultos.
- Tronco: Es armónico y profundo. Su silueta denuncia el aleonado o predominio del tercio anterior en los toros y la variante “cuesta abajo” o “bajo de agujas” en las hembras, es decir, la línea superior inclinada de atrás hacia delante y de arriba abajo. La cruz es elevada, región dorso-lumbar recta y no muy musculada. La grupa algo inclinada con sacro realzado y caderas, dependiendo de la zona geográfica en que se críe el ejemplar, son anchas en La Marisma y estrecha en Los Montes. La cola

de nacimiento adelantado pegada entre los isquiones, larga y con generoso borlón. El Pecho es proporcionado y el tórax alargado y manifiestamente profundo. El vientre no muy abultado y con mucha capacidad, dependiendo de la época del año, en cuanto a contracción y dilatación.

- Extremidades y aplomos: Las extremidades son cortas, fuertes, descarnadas en la parte superior y bien aplomada. Las pezuñas son unidas y fuertes, y dependiendo de la zona geográfica son anchas en la zona de Marisma y estrechas en la zona de Montes. El color es variable y depende del pelaje, pero normalmente de color ambarino.
- Piel y Mucosas: La piel es gruesa y se le atribuye cierto grado de motilidad autónoma. Las mucosas son sonrosadas o ligeramente oscurecidas.
- Pelo: Corto, sentado y tupido, abundante en el pabellón auricular, no tiene flequillo, pero sí es abultado el borlón. El color de la capa es bien variado predominando el entrepelado. Así, encontramos pelos negros, colorados, berrendos (negro y colorado), sardos, jaboneros y rubios.



Figura 4. Vaca y ternero de la raza Marismeña pertenecientes a la Estación Biológica de Doñana en la zona de la Reserva.



Figura 5. Toro y ternero de la raza Marismeña pertenecientes a la Estación Biológica de Doñana en la zona de la Reserva.

4.4. El programa de conservación

El objetivo general del programa es el mantenimiento de la diversidad genética de la raza y la mejora de la producción de carne en su sistema de explotación extensivo estricto. A continuación, se detallan los objetivos y criterios concretos de dicho programa:

- Objetivo 1.- Mantener los niveles de diversidad genética.
 - Criterio 1.- Valor del coeficiente individual de consanguinidad.
 - Criterio 2.- Valor del coeficiente individual de parentesco.
 - Criterio 3.- Valor del coeficiente de coascendencia teniendo en cuenta la distribución de los animales por fincas.
 - Criterio 4.- Valor del Índice de Conservación Genética individual (efecto medio de fundadores).
 - Criterio 5.- Valor del Índice de Conservación Genética de los apareamientos potenciales.
 - Criterio 6.- Valor del coeficiente de asignación molecular individual de los animales a inscribir en el Registro Auxiliar.
- Objetivo 2.- Mejora funcional de la raza como productora de carne en condiciones naturales.
 - Criterio 1.- Intervalo entre partos de las vacas.

- Criterio 2.- Kilos de ternero y año producido por vaca. Se obtiene dividiendo el número total de kilos de ternero producidos por cada vaca, por el número de años registrados.

4.5. Situación actual de la raza y su gestión

Los censos de la raza, a 31 de diciembre de 2016, se exponen en la tabla 2. Posteriormente, en la tabla 3, se especifican los censos de los animales mayores de 24 meses según provincias.

Tabla 2. Censos de la raza bovina Marisemeña según animales inscritos en el libro genealógico a 31 de diciembre de 2016.

	Hembras	Machos	Totales parciales
<i>Registro FUNDACIONAL</i>	868	82	950
<i>Registro de NACIMIENTOS</i>	1 171	364	1 535
<i>Registro DEFINITIVO</i>	273	1	274
<i>Registro AUXILIAR A</i>	310	0	310
<i>Registro AUXILIAR B</i>	14	0	14
		TOTAL	3 083

Tabla 3. Distribución de animales de la raza mayores de 24 meses por provincias

	Hembras	Machos	Totales
<i>Cádiz</i>	10	2	12
<i>Huelva</i>	1 853	87	1 940

La raza bovina Marisemeña tiene una distribución únicamente andaluza, con la casi totalidad de sus efectivos localizados en la provincia de Huelva y, más concretamente, en las fincas integradas en el Espacio Natural de Doñana. En la figura 6 se muestra un mapa de las explotaciones incluidas en el Espacio Natural, así como sus códigos de Registro de Explotación Ganadera (REGA). Los censos de animales mayores de 24 meses presentes en cada una de las fincas y el código REGA completo se presentan en la tabla 4. En la última columna se muestra un sumatorio de los animales presentes en estas explotaciones, así como el porcentaje que representan frente al total de animales de la raza mayores de 24 meses. Los datos indican que más de dos tercios de los efectivos están ubicados en estos códigos.

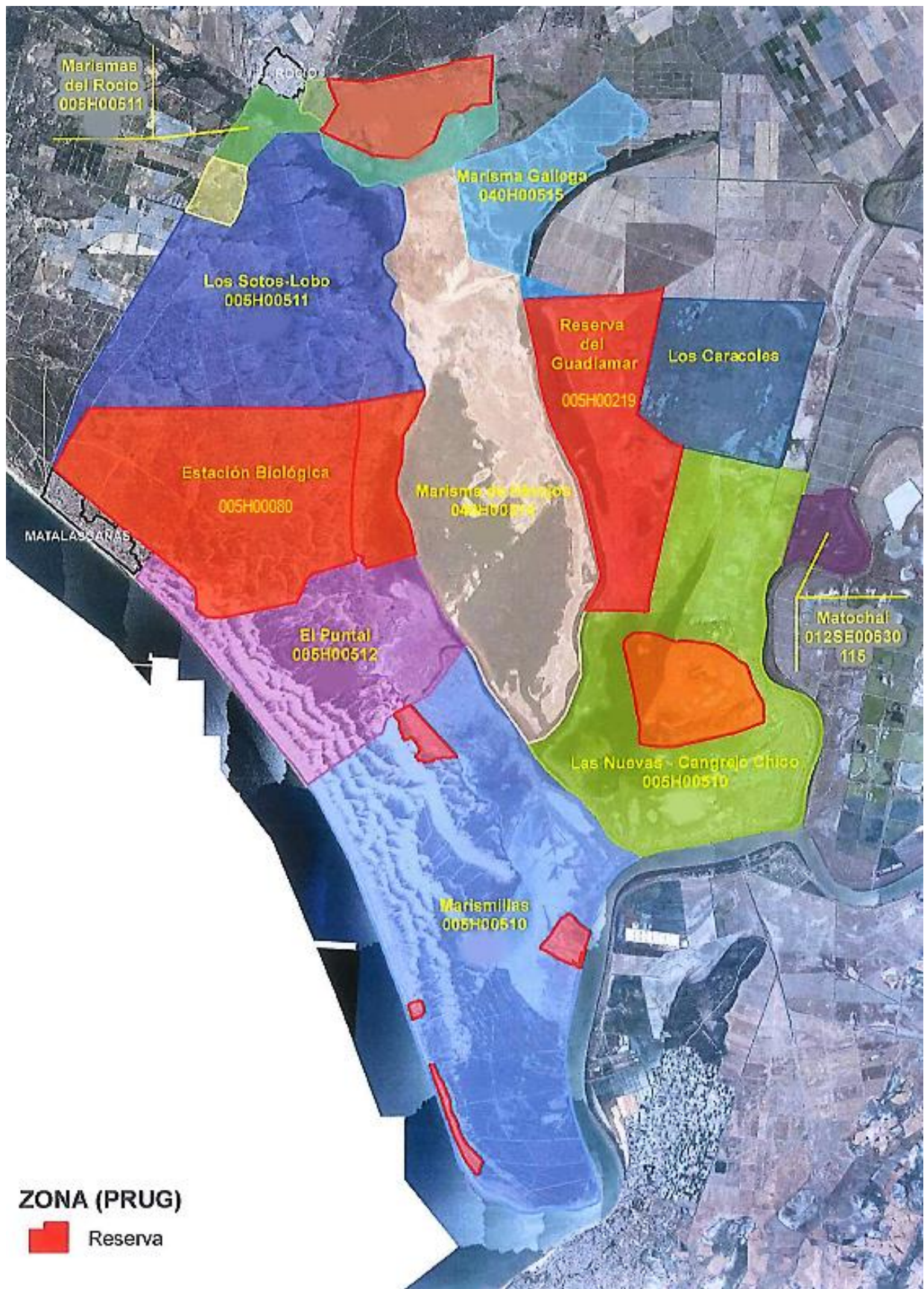


Figura 6. Mapa con las explotaciones con uso ganadero incluidas en el Plan Rector de Uso y Gestión de Doñana. *Fuente: Espacio Natural de Doñana, Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio, Junta de Andalucía.

Tabla 4. Censos de animales mayores de 24 meses para cada uno de las explotaciones con animales de la raza Marismeña en el Espacio Natural de Doñana.

Fincas	Hembras	Machos	Total general	Porcentaje (%)	Suma parcial
ES210050000080	37	10	47	2.42	
ES210050000219	47	13	60	3.09	
ES210050000510	611	24	635	32.73	1312 animales 67.63 %
ES210050000511	101	6	107	5.52	
ES210050000512	86	3	89	4.59	
ES210400000514	270	8	278	14.33	
ES210400000515	92	4	96	4.95	
Otras	609	19	628	32.37	-
Total general	1853	87	1940	100.00	-

Los censos y consolidación racial actuales permiten plantear algunas medidas de mejora siempre sobre un claro fondo de conservación. Por ello, en su programa de cría y mejora se pueden acometer tanto medidas destinadas a la conservación de su diversidad genética como algunos pasos incipientes para organizar medidas concretas destinadas a una selección productiva. Es uno de estos grupos de medidas el que preocupa enormemente en la gestión de la raza: la conservación de la diversidad genética. Esto se debe principalmente a tres motivos:

- 1) Sistema de cría estrictamente extensivo: Los animales de la raza que se crían en las fincas del Espacio Natural de Doñana se encuentran en unas condiciones que en nada se asemejan a la producción convencional de ganado bovino. El manejo es mínimo y se ciñe a las tareas propias de los controles anuales de saneamiento, identificación, ahijado y control de plazas con salida de animales que esté fuera de los cupos establecidos por el Plan Rector de Uso y Gestión.
- 2) Alto número de ejemplares reproducidos en pastos comunales: En las fincas del Espacio los animales se crían en pastos comunales, donde cohabitan ejemplares de distintos propietarios que se aparean al azar con los sementales ubicados en dichas fincas. Aunque pueden determinarse los sementales presentes en cada una de las fincas, no puede llevarse a cabo un control individualizado de apareamientos, lo que imposibilita una normal gestión de la consanguinidad en las generaciones venideras.
- 3) Calificación sanitaria de las explotaciones en las que se cría: El caso de la Tuberculosis en Doñana es sobradamente conocido por la Administración. Se trata de un grave asunto que alcanza casi por igual a todo el Espacio Natural; un problema que sufre el ganado bovino, que deriva de los sacrificios obligatorios por las campañas de saneamiento, y en el que interviene una fauna salvaje no controlada por el Programa de Erradicación. Dado que esta fauna salvaje se mueve con libertad entre las fincas del Espacio, puede, realmente, considerarse todo el Espacio una sola unidad epidemiológica

Sin embargo, en la gestión del ganado, el Espacio está dividido en diferentes explotaciones. Cualquier tipo de movimiento entre las mismas queda supeditado a la normativa reguladora, ciertamente estricta en el caso de explotaciones que no están calificadas como libres de Tuberculosis, entre las cuales no se pueden llevar a cabo movimientos, ni permiten la entrada de animales desde explotaciones calificadas como “oficialmente indemnes”.

Los dos primeros puntos se están abordando desde la Asociación gestora del libro genealógico para poder tomar medidas que garanticen el mayor control posible de los animales y reproductores presentes y futuros, posibilitando que la raza siga criándose en un sistema tan peculiar, y en equilibrio con un medio natural tan emblemático. Por otro lado, el tema de las calificaciones sanitarias escapa al control de la Asociación, y debe ser la Administración, como garante de la conservación de los recursos genéticos incluidos en su ámbito geográfico, la que proporcione algún mecanismo para poder preservar la diversidad genética de la raza.

El número de casos positivos en el diagnóstico de la tuberculosis se ha incluso incrementado en el último año en la mayoría de las explotaciones, por lo que las campañas no parecen estar teniendo el efecto deseado. En este caso, los informes de la última década establecen una gran prevalencia en la fauna silvestre, concretamente en el jabalí, pudiendo llegar por encima del 90% en el Parque Nacional de Doñana. A esta especie se suman las evidencias científicas de aumentos de prevalencia de enfermedad en las poblaciones de ciervos y gamos. Estas especies silvestres conviven con la raza bovina Marismeña y son muy numerosas en el Parque Nacional, por lo que difícilmente se podrá llevar a cabo una erradicación de la Tuberculosis sin actuar en estos reservorios.

Como consecuencia de los problemas derivados por la incapacidad de movimientos, según la normativa actual de Tuberculosis bovina, la raza se encuentra en una situación en la cual es prácticamente imposible llevar a cabo un programa de conservación convencional. En primer lugar, se están quebrantando los principios de cualquier programa de conservación genético, específicamente, el mantenimiento de diversidad genética. Al mantener las explotaciones aisladas, se están creando subgrupos raciales con apareamientos familiares que darán lugar a un importante aumento de la consanguinidad en pocas generaciones, así como a la aparición de los efectos negativos asociados a la misma. Esto también provoca efectos negativos en las características productivas de los animales de la raza, por lo que en un futuro podría hacerse insostenible el mantenimiento de la misma a través de la valorización de sus producciones ecológicas y sostenibles con el medio. También ha de valorarse la posible aparición de enfermedades hereditarias que puedan poner en peligro la supervivencia de la raza, ya de por sí en peligro de extinción.

5. ESPACIO NATURAL DE DOÑANA

El Espacio Natural de Doñana nace de acuerdo a la “Ley 8/1999, de 27 de octubre, del Espacio Natural de Doñana”, cuyo objetivo es “el establecimiento del régimen jurídico de gestión del Espacio Natural Doñana, en orden a adicionar la protección, conservación, restauración y mejora de la totalidad de sus recursos naturales establecida en la normativa de aplicación, promoviendo la investigación científica de los mismos”.

El Espacio Natural de Doñana engloba:

- Parque Nacional de Doñana, declarado por el “Decreto 2412/1969, de 16 de octubre, de creación del Parque Nacional de Doñana”, y sus Zonas de Protección.
- Parque Natural de Doñana, declarado por la “Ley 2/1989, de 18 de julio, por la que se aprueba el Inventario de Espacios Naturales Protegidos de Andalucía y se establecen medidas adicionales para su protección, bajo la denominación de Parque Natural Entorno de Doñana”.

La extensión total del Espacio Natural de Doñana, según el Decreto 142/2016, es de 128 385,8. En la figura 7 se muestra un mapa del Espacio Natural, en el cual puede diferenciarse un núcleo central perteneciente al Parque Nacional y la extensión del Parque Natural en la periferia del primero.

Una de las singularidades de Doñana es su gran cantidad de biotopos que posibilita su enorme biodiversidad, única en Europa. Hay más de 1 400 especies de flora, casi 2 000 de animales, unas 400 de hongos y varias decenas de bacterias, protozoos y cromistas. En el caso de las aves, la importancia de Doñana radica en su ubicación como zona de paso en las migraciones entre Europa y África, pero también

existen especies de peces, cetáceos y tortugas marinas que transitan por el Estrecho de Gibraltar en sus rutas entre el océano Atlántico y el mar Mediterráneo.

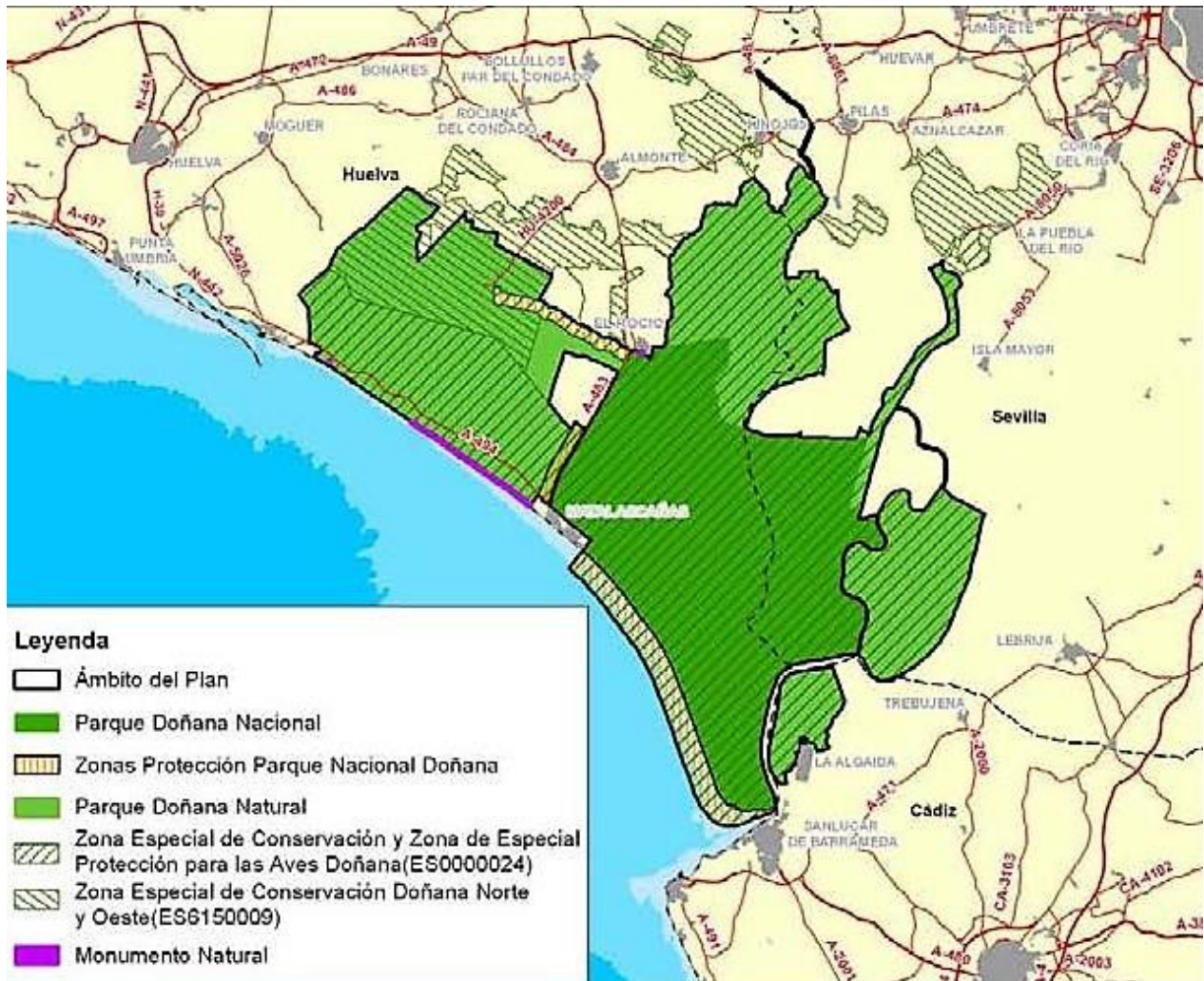


Figura 7. Mapa del Espacio Natural y áreas de los parques Nacional y Natural. *Fuente: Decreto 142/2006. BOJA núm. 185, pág. 118.

En el Espacio Natural de Doñana pueden diferenciarse, principalmente, cuatro sistemas fisiográficos (figura 8):

- Acantilados, playas, sistemas de dunas activas y sistemas de flechas litorales.
- Marismas.
- Mantos eólicos y dunas estabilizadas.
- Arenas basales y glaciés.

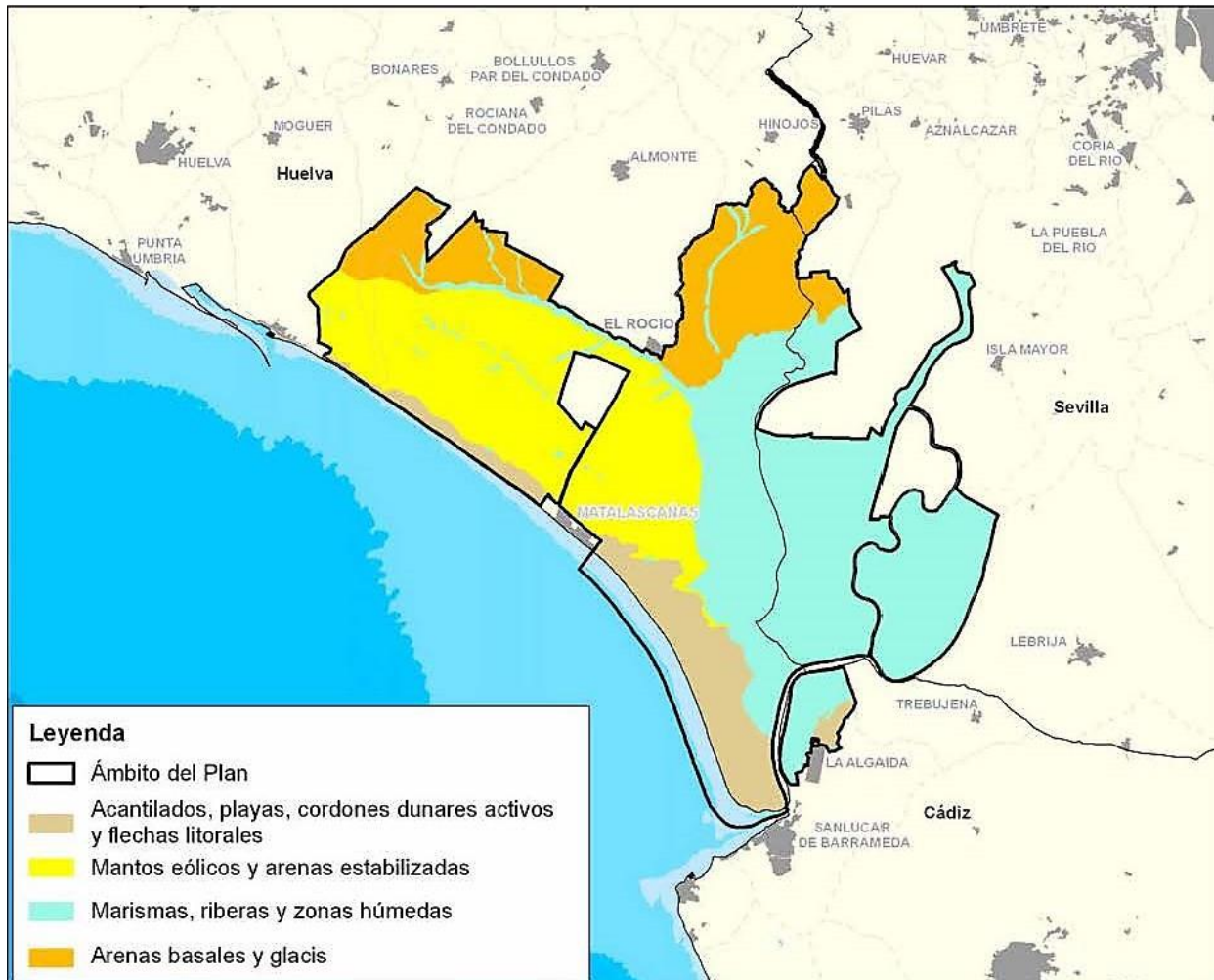


Figura 8. Sistemas fisiográficos de Doñana. *Fuente: Decreto 142/2006. BOJA núm. 185, pág. 120.

Sobre la fauna del Espacio Natural, cabe destacar que existen 35 especies amenazadas según el Catálogo Andaluz de Especies Amenazadas. Entre ellas, 18 se encuentran en peligro de extinción, algunas tan emblemáticas como el águila imperial ibérica (*Aquila adalberti*), el lince ibérico (*Lynx pardinus*), la tortuga mora (*Testudo graeca*) y el esturión (*Acipenser sturio*).

En el marco del “Decreto 142/2016, de 2 de agosto, por el que se amplía el ámbito territorial del Parque Natural de Doñana, se declara la Zona Especial de Conservación Doñana Norte y Oeste (ES6150009) y se aprueban el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales y el Plan Rector de Uso y Gestión del Espacio Natural Doñana”, en el anexo V, se establece el Plan de Ordenación de los Recursos Naturales del Espacio Natural Doñana (PORN). Este Plan identifica, entre los hábitats y especies, las prioridades de conservación del Espacio Natural.

La importancia de mencionar el PORN en este trabajo se debe a que la actividad ganadera en Doñana queda caracterizada en el mismo. Concretamente en el punto 2, “caracterización general del Espacio”, dentro del

apartado “usos del suelo y aprovechamientos de los recursos”, subapartado de “actividades ganaderas”. Aquí es conveniente citar un párrafo completo:

La actividad ganadera en régimen extensivo ha constituido una de las bases de aprovechamiento de la Comarca de Doñana, así que buena parte de sus paisajes y formaciones vegetales están ligados estrechamente al pastoreo, y aunque con una importancia mucho más reducida, aún se mantiene como una actividad relevante que genera importantes externalidades positivas en el espacio protegido (mantenimiento de la biodiversidad de las dehesas y otras formaciones pascícolas, su vinculación afectiva e histórica con el paisaje marismeño, su significado antropológico, cultural y etnográfico, etc.), lo que contribuye a configurar su identidad.

Lo anterior pone de relieve la importancia del ganado en Doñana, a pesar de algunos movimientos conservacionistas de las últimas décadas que optan por la eliminación del ganado de los espacios naturales protegidos. Además, en dicho apartado se mencionan claramente las especies y razas de ganado tradicionalmente presentes: bovino de raza Marismeña, equino de raza Marismeña y ovino de raza Churra Lebrijana, citando las incluidas en el Catálogo Oficial de Razas de Ganado de España (Anexo I del Real Decreto 2129/2008). No se nombra la raza Caballo de las Retuertas porque el reconocimiento oficial de la raza se realizó en la misma anualidad de publicación del Decreto 142/2016 y se sobreentiende que cuando se mandó a firmar aún no se disponía de oficialidad para incluirlo.

En el anexo VI del Decreto 142/2016, en el marco del PORN, se establece el Plan Rector de Uso y Gestión del Espacio Natural de Doñana (PRUG). Sobre el ganado y, particularmente, en lo que respecta a la raza bovina Marismeña, conviene destacar los siguientes apartados.

- 2. Objetivos - 2.1. Objetivos específicos para el Espacio Natural: Entre los objetivos específicos del PRUG, se incluye fomentar el uso y conservación de razas de ganado autóctonas y la utilización de variedades locales de semillas.
- 4. Criterios de uso y gestión - 4.3. Aprovechamiento sostenible - 4.3.1. De aplicación en el ámbito del Parque Nacional y el Parque Natural - 4.3.1.3 Para las actividades ganaderas: En este apartado, se establece que la Consejería competente en materia de medio ambiente valorará como prioridad para el aprovechamiento de los pastos, el número de cabezas de razas como las equina Marismeña o Caballo de las Retuertas y la bovina Marismeña. Otro criterio de prioridad establecido es la explotación de la cabaña como ganadería ecológica.
- 6. Normativa - 6.3. Normas relativas a usos y actividades - 6.3.2. Normas relativas a usos y actividades en el Parque Nacional - 6.3.2.1. Aprovechamientos tradicionales - 6.3.2.1.1. Ganadería extensiva:

- Apartado 1.- Régimen extensivo: Implica la necesidad de una cabaña ganadera capaz de aprovechar los recursos disponibles en el medio sin necesidad de aportes y que se reproduzca de manera natural, aconsejándola restringirla a especies, razas y ecotipos autóctonos.
 - Apartado 16.- Razas para entrada: La entrada de ganado que nunca haya pastado en el Parque estará restringida a animales de la especie bovina, raza Marismeña, de la especie equina, razas Marismeña o Caballo de las Retuertas, y de la especie ovina, raza Churra Lebrijana.
 - Apartado 21.- Sustitución gradual de razas por autóctonas: Se apunta que el programa sectorial ganadero contemplará la sustitución gradual en el tiempo de las razas no autóctonas por las que sí lo son, siendo preferentemente las que pueden pastar en el Parque Nacional.
- 7. Líneas de actuación - 7.2. Instrumentos de apoyo a la gestión - 7.2.1. Aprovechamiento sostenible y gestión activa - Apartado 6: El cual establece el fomento al mantenimiento de los incentivos dirigidos a la utilización de razas ganaderas autóctonas y adaptadas a las condiciones locales, así como la continuación de los estudios orientados a la mejora de su conocimiento.

6. LA ASOCIACIÓN NACIONAL DE CRIADORES DE GANADO MARISMEÑO

En este apartado se pretende exponer brevemente la historia de la Asociación que gestiona la raza bovina Marismeña. Es necesario comprender cómo se gesta dicha Asociación y los intereses de sus ganaderos y/o socios para poder desarrollar un trabajo científico que no solo deje algunos artículos en revistas, a las cuales posiblemente nunca accederán algunos de ellos, sino que sirva de transferencia al sector para poder apoyar la mejora y conservación de esta raza. Para ello se ha utilizado la escasa bibliografía disponible como lo escrito por Maraver (2007) y la inestimable ayuda de don Manuel Chico Otero.

La primera asociación de ganaderos puede datarse a partir del año 1914, momento en el que la crisis obrera en Almonte induce a la población a solicitar al Ministerio algunos terrenos en Doñana para que los ganaderos puedan llevar a cabo su actividad. Posteriormente, a partir del 3 de abril de 1926, el Ayuntamiento de Almonte comenzó a ceder a sus vecinos el uso de las Marismas del Rocío. Esta finca estaba compuesta por 108,48 hectáreas de marisma y 14,83 de monte. Tras cuatro años en los que se pagaba un canon por uso, el Ayuntamiento decidió ceder los pastos de forma gratuita para sus ganaderos.

A raíz de los movimientos de conservación, que en la década de los sesenta ya habían adquirido gran reconocimiento a nivel mundial, se crean, en 1964 y 1969 respectivamente, la Reserva Biológica y el Parque Nacional de Doñana. La génesis de estas instituciones desencadenaría diferentes disputas que se arrastran hasta el día de hoy por la regulación del ganado: las cargas pastantes y, sobre todo, la exclusión de la ganadería de algunas zonas del Parque.

El ganado que se manejaba en Doñana, en lo referente a las asociaciones de Almonte, fue mayoritariamente, bovino y equino. Como ocurre actualmente, aunque en menor medida, los caballos estaban repartidos entre numerosos ganaderos con pocas cabezas cada uno, mientras que el bovino estaba repartido entre pocos propietarios.

El núcleo principal de ganado vacuno se situaba en lo que los ganaderos denominan el “coto”: toda la franja que discurre por Malandar, Palacio de Marismillas, Cerrotrigo, Las Lindes, El Puntal, Lagunas de Santa Olalla, Las Mogeda y toda La Vera, desde Veta del Puntal, pasando por el Palacio de Doñana, Martinazo, siguiendo por La Algaida, Hato los Barrera, Casa de los Guardas y finalizando en Hato Villa. Los Arangüete, Carrión, Martínez y otros fueron importantes ganaderos de vacuno en Doñana. Algunos de ellos incluso mantuvieron pleitos con la Administración para seguir manteniendo sus reses en las zonas de la Reserva. Posiblemente, gran parte del ganado que hoy tiene la Estación Biológica de Doñana proviene, en gran número, del expropiado a varios de dichos ganaderos.

Es a partir del año 1979 cuando comienza a gestarse la actual asociación de ganaderos, citándose como lugar de referencia el Mesón del Sacayón, donde los ganaderos se reunían para tratar de hacer frente a los inconvenientes comunes, como la falta de pastos por las sequías o los problemas derivados de las riadas.

Finalmente, el 23 de febrero de 1982, se creó la Asociación de Criadores de Ganado Marismeño de Almonte, con 59 socios, cuyo primer presidente don Antonio Roldán Pérez. Los fines primordiales de la Asociación se recogieron en los estatutos de entonces:

- Defender los intereses de los asociados.
- Velar por la continuidad de la raza autóctona, tanto vacuna como equina.
- Mejorar genéticamente las razas.
- Adquirir buenos sementales.
- Mantener los terrenos de pastos tradicionales.
- Recabar ayudas, subvenciones, etc.

Entre los múltiples conflictos que la Asociación ha mantenido con la Administración, procede destacar por importancia y en relación al ganado bovino, lo que los ganaderos comúnmente denominan como “la invasión de Marismillas”, en 1993. La situación de ese año por falta de pastos era extrema, por ejemplo, en la finca Marisma de Hinojos; mientras que la finca Marismillas se encontraba sin asignación de ganado y con alta densidad de pasto. Tras varias reuniones, la Asamblea decidió la invasión de la finca por los ganaderos, introduciendo ganado en la misma sin acuerdo con la Administración competente, lo que provocó un gran revuelo social y la presencia de distintas fuerzas de seguridad del Estado, culminando con algunos socios imputados y procesados por este tema. La misma Asociación fue procesada por este altercado, acarreando importantes costes en aquel entonces. Sin embargo, este suceso conllevó una negociación y acuerdo con el Parque, gracias a lo cual un número importante de cabezas de ganado ha seguido pastando en dicha finca hasta el día de hoy.

En 1996 se inicia una serie de intervenciones entre las distintas organizaciones ganaderas, Parque, Ayuntamientos, etc., sobre el control y ajuste de la carga ganadera en Doñana, con la participación del Patronato. Una vez realizado el ajuste por plazas adjudicadas (años 1999-2000), las cabezas excedentes fueron indemnizadas por la Administración en unos valores ya acordados. En 2002, con el Plan Ganadero, se lleva a cabo el ajuste de ganado en las distintas zonas de Doñana, que permanece actualmente. Con anterioridad, las organizaciones con competencia en las distintas fincas, llevarían a cabo el reparto de la totalidad de plazas existentes en cada zona entre los ganaderos. Las cabezas que cada socio mantuvo fueron directamente proporcionales al número de cabezas que en aquél momento mantenían, sin diferenciar entre equino y bovino. A raíz de este ajuste nacen las licitaciones de pastos por fincas o zonas de forma periódica, con la Administración competente en cada una de ellas.

El crecimiento de la Asociación de Criadores de Ganado Marismeño de Almonte, tanto en número de socios como en reconocimiento, sobre todo por la labor de conservación de las razas bovina y equina Marismeña, conllevó el cambio de nombre en dos ocasiones. Primero, pasaría a denominarse Asociación Andaluza de

Criadores de Ganado Marismeño, nombre con el cual, el 24 de marzo de 2004, obtendría el reconocimiento oficial de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía para la llevanza del libro genealógico de la raza bovina Marismeña. Años más tarde ampliaría su ámbito territorial de actuación, con el consecuente cambio de nombre al que aún ostenta en la actualidad: Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño.

La Asociación, así como el resto de asociaciones que existen en la zona, es importante para el mantenimiento de la tradición ganadera en Doñana, dado que, en términos económicos, los ganaderos actuales no pueden competir con la producción agroindustrial. Estas asociaciones y sus asociados juegan un importante papel de ligazón entre la sociedad y el espacio protegido que no debe ser desaprovechada (Bejarano-Bella and Torres-Rodríguez, 2016).

Actualmente, la Asociación Nacional de Criadores de Ganado Marismeño, con código de identificación fiscal n. G21163944, tiene su sede en la calle El Pocito n.º 10 de Almonte, Huelva. En diciembre de 2017, contaba con un total de 579 socios.

7. ESTUDIO DEL CRECIMIENTO

El estudio del crecimiento y los factores que lo condicionan es importante para poder evaluar la productividad de los animales domésticos (Hirooka, 2010). El crecimiento puede definirse como el incremento en el tamaño o el peso de un animal, por lo que el “crecimiento real” se precisaría como el incremento total de materia viva de un animal concreto (Warriss, 2000).

Generalmente, el crecimiento, cuando es representado gráficamente en función de la edad y el peso, exhibe una curva de tipo sigmoidea (Brody, 1945). Esta curva presenta tres fases. La primera se denomina fase de aceleración y en ella se producen las mayores tasas de ganancia de peso en el animal. Posteriormente, se produce un punto de inflexión, dando lugar a la segunda fase del crecimiento o fase de deceleración, en la cual la tasa de crecimiento va disminuyendo gradualmente. Por último, aparece la tercera fase o fase de estabilización, que coincide con el peso adulto del animal (Fitzhugh, 1976).

Según Lawrie (1998), los factores que influyen en el crecimiento de los animales productores de carne son:

- **Genético:** Estrechamente ligados con el grado de desarrollo de la especie al nacimiento, también son sumamente importante en la composición corporal. A nivel comercial afecta a parámetros como el grado de engrasamiento, el grado de desarrollo muscular y las necesidades nutricionales en el desarrollo. Además, la variabilidad genética influye en el balance del control endocrino del crecimiento y el desarrollo.
- **Fisiología ambiental:** Aspecto que se refiere, en general, a la temperatura, la luz y la humedad. La temperatura y la humedad pueden ser factores determinantes en el crecimiento, retardándolo en condiciones que se desvíen de las preferentes para la especie o la raza.
- **Aspectos nutricionales:**
 - **Plano y calidad nutricional:** Las diferencias en el plano nutricional pueden alterar no solo el crecimiento en general, sino las distintas regiones, tejidos y diversos órganos del animal.
 - **Interacción con otras especies:** Deben tenerse en cuenta aquellas que puedan influir en el medio, por ejemplo, depredadores, competidores en la alimentación, plagas e incluso microorganismos como bacterias o parásitos que modifiquen el crecimiento.
 - **Suelos y crecimiento de plantas:** Los tipos de suelo y el clima afectarán al tipo y desarrollo de las especies vegetales, lo que indirectamente influirá en el crecimiento de los animales que habiten en el medio.
 - **Elementos traza en suelos y pastos:** Las deficiencia o excesos de determinados elementos traza pueden provocar la aparición de enfermedades modificadoras del crecimiento.
 - **Fuentes de pienso no convencionales:** A través de innovaciones en el diseño y contenido de los piensos, se puede mejorar su aceptabilidad y la disponibilidad de los nutrientes.

- Manipulación exógena
 - Control de reproducción: mediante la modificación de la fertilidad y prolificidad.
 - Control del crecimiento: mediante el uso de hormonas, promotores del crecimiento, gonadectomía, modificaciones genéticas y uso de antibióticos.

7.1. Descripción del crecimiento y el uso de modelos no lineales

Durante décadas, se han utilizado multitud de modelos matemáticos con el objetivo de describir el crecimiento, pero son los modelos no lineales los que permiten obtener parámetros biológicamente interpretables que posteriormente pueden incluirse en los programas de selección de las razas (Ratkowsky, 1983). De esta forma, es posible separar los factores ambientales de los factores genéticos e identificar los animales que transmiten a su descendencia una mayor velocidad de crecimiento, mayor ganancia de peso en una fase específica del crecimiento o un mayor peso adulto (Santoro *et al.*, 2005).

Las curvas de crecimiento permiten resumir en pocos parámetros las características del crecimiento de una población o individuo y evaluar la respuesta del crecimiento a los tratamientos. Los modelos no lineales son bastante flexibles, pues permiten trabajar con pesadas irregulares en el tiempo, con intervalos diferentes entre ellas y, además, permiten la ausencia de datos (Freitas, 2005).

Dado que los modelos utilizados en este trabajo se definirán de forma concreta, en el apartado de material y métodos del capítulo correspondiente al estudio del crecimiento en la raza bovina Marismeña, no serán detallados en esta parte.

En el caso del bovino, se han realizado multitud de investigaciones sobre el modelo no lineal que mejor representa el crecimiento en diferentes razas y cruces comerciales. De forma general, la mayoría de los modelos usados presentan un buen ajuste a los datos, pero para cada caso debe seleccionarse el más adecuado, dependiendo de la naturaleza del estudio y la posible aplicación buscada a partir de los resultados obtenidos, dado que cada modelo tiende a sobreestimar o subestimar los pesos en diferentes rangos de edades (Brown *et al.*, 1976). Sin embargo, los modelos de Brody y Richards son los que han resultado adaptarse mejor a los datos de esta especie (Goonewardene *et al.*, 1981; Arango and Van Vleck, 2002).

El grado de ajuste entre ambos modelos suele ser muy similar a lo citado en la bibliografía, lo que provoca que la mayoría de los investigadores suele decantarse por el de Brody, ya que al usar solo 3 parámetros en lugar de 4 (caso de Richards), tiene un coste computacional más bajo. Aun así, con el avance de la informática actual, puede que éste no sea un criterio para descartar un modelo con una mayor bondad de ajuste a los datos estudiados. De este modo, pueden utilizarse pruebas estadísticas para establecer si las diferencias entre las estimaciones de ambos modelos mejoran el ajuste a los datos, como proponen De Behr *et al.* (2001).

El mejor ajuste del modelo de Brody en comparación con otros modelos para la especie bovina parece estar relacionado con la ausencia del punto de inflexión (Brody, 1945). Investigadores como Forni *et al.* (2009a) atribuyen esto a un nivel de maduración mayor de esta especie al nacimiento, lo que podría situar dicho punto de inflexión antes del final de la gestación.

Sin embargo, los modelos de mejor ajuste pueden variar cuando se utilizan datos de crecimiento sesgados, es decir, con observaciones solo hasta edades de interés comercial (por ejemplo, el sacrificio), lo que se puede denominar como el estudio de la curva de crecimiento comercial (Lupi *et al.*, 2015). Lopes *et al.* (2012) hallaron que el modelo von Bertalanffy era el de mejor ajuste para pesos de bovinos criados a pasto en Brasil, con edades entre el nacimiento y los 750 días de vida. En estos casos es importante tener en cuenta que el peso asintótico estimado por los modelos, no puede tomarse como peso adulto, ya que, al no haber observaciones reales de la parte superior de la curva, el valor calculado será inferior al real (Forni *et al.*, 2009a).

El uso de las curvas de crecimiento en razas locales y, más si cabe, en peligro de extinción, puede generar una información muy valiosa para los criadores, dado que, generalmente, no existe la posibilidad, en estos núcleos de ganado, de realizar estudios complejos o detallados con pesadas seriadas. Y, en cualquier caso, de existir la posibilidad, sería en instalaciones de manejo aisladas o de investigación, en las cuales las condiciones ambientales son muy diferentes. De esta forma, el uso de los modelos no lineales, a partir de pesadas aisladas, puede trazar una curva orientativa para la toma de decisiones de los ganaderos.

8. CALIDAD DE LA CANAL

La canal es la unidad de transacción comercial más importante para la producción de carne y la venta al consumidor. La clasificación de las canales es capaz de crear grupos uniformes de calidad similar, principalmente en lo que se refiere a rendimiento, despiece y grado de engrasamiento. Esta información se usa posteriormente en las decisiones de precio y distribución de los productos.

El establecimiento de un sistema de clasificación de canales ofrece una serie de ventajas que se relacionan a continuación (Espejo *et al.*, 2000):

- Establecer un entendimiento entre la oferta y la demanda, al definir diferentes tipos de canales en función de sus caracteres cuantitativos y cualitativos.
- Conocer los diferentes tipos de canales producidas en la zona geográfica según los genotipos y sistemas de explotación utilizados.
- Conocer las preferencias de demanda en función de las características de las canales.
- Orientar las producciones de acuerdo al valor que se le atribuye a cada tipo de canal.

Según el Real Decreto 225/2008, la canal se define como: “el cuerpo entero del animal sacrificado tal como se presenta después de las operaciones de sangrado, eviscerado y desollado, procedente de bovinos sacrificados conforme a lo establecido en el anexo III del Reglamento (CE) n.º 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. Esta canal será presentada a clasificación: Sin cabeza ni patas; la cabeza separada de la canal por la articulación atloide-occipital; las patas cortadas por las articulaciones carpometacarpianas y tarsometatarsianas. Sin los órganos contenidos en las cavidades torácica y abdominal con o sin los riñones, la grasa de riñonada, así como la grasa pélvica. Y sin los órganos sexuales externos ni músculos unidos, sin la ubre ni la grasa mamaria”.

La media canal queda definida, pues, de la siguiente manera: “pieza obtenida por la separación de la canal siguiendo el plano de simetría que pasa por el centro de las vértebras cervicales, dorsales, lumbares y sacras y por el centro del esternón y la sínfisis púbica”.

8.1. Conformación y medidas sobre la canal

La conformación de la canal está relacionada con el rendimiento cárnico y la composición de la misma en carne (Bass *et al.*, 1981; Kempster *et al.*, 2010). Esta relación es positiva, por lo que las canales con mejores conformaciones tienen un mayor valor en el mercado convencional.

Según el Real Decreto 225/2008, se establecen las siguientes categorías de canales:

- a) Categoría A: canales de machos jóvenes sin castrar de menos de dos años.

- b) Categoría B: canales de otros machos sin castrar.
- c) Categoría C: canales de machos castrados.
- d) Categoría D: canales de hembras que hayan parido.
- e) Categoría E: canales de otras hembras.

Aunque cabe destacar que la clasificación de las canales es de carácter voluntario para canales de vacunos de peso inferior a los 300 kg.

Según la conformación, el mismo Real Decreto, estable seis clases. Esta calificación de las canales podrá realizarse por un clasificador (técnico cualificado de acuerdo a la normativa), o por un dispositivo de clasificación automatizada. Son las siguientes:

- S - superior: Todos los perfiles extremadamente convexos; desarrollo muscular excepcional con dobles músculos (tipo «culón»).
- E - excelente: Todos los perfiles de convexos a superconvexos; desarrollo muscular excepcional.
- U - muy buena: Perfiles convexos en conjunto; fuerte desarrollo muscular.
- R - buena: Perfiles rectilíneos en conjunto; buen desarrollo muscular.
- O - menos buena: Perfiles de rectilíneos a cóncavos; desarrollo muscular medio.
- P - mediocre: Todos los perfiles de cóncavos a muy cóncavos; escaso desarrollo muscular.

En lo que se refiere al grado de engrasamiento del exterior de la canal y la cara interna de la cavidad torácica, se establecen 5 clases:

- 1 - no graso: Cobertura de grasa inexistente o muy débil.
- 2 - poco cubierto: Ligera cobertura de grasa, músculos casi siempre aparentes.
- 3 - cubierto: Músculos, excepto cadera y paletilla, casi siempre cubiertos, escasos acúmulos de grasa en el interior de la cavidad torácica.
- 4 - graso: Músculos cubiertos de grasa, pero aun parcialmente visibles a nivel de la cadera y de la paletilla, algunos acúmulos pronunciados de grasa en el interior de la cavidad torácica.
- 5 - muy graso: Toda la canal cubierta de grasa, acúmulos importantes de grasa en el interior de la cavidad torácica.

Por otro lado, en los estudios sobre la calidad de las canales se suelen implementar medidas objetivas como es el caso de las morfológicas (Boer *et al.*, 1974):

- Longitud total de la canal: medida sobre la cara interna de la media canal, tomando la longitud máxima desde el borde craneal de la primera costilla en su punto medio hasta el borde anterior de la sínfisis isquiopubiana.
- Profundidad interna del pecho: medida sobre la cara interna de la media canal, desde el borde inferior del cartílago esternal al borde inferior del canal medular entre la 5ª y 6ª vértebras dorsales.

- Longitud de la pierna: desde el centro de la cara interna de la articulación tarso-metatarsiana al borde anterior de la sínfisis isquiopubiana.
- Perímetro máximo de la pierna: medida alrededor de la zona de mayor perímetro de la pierna en sentido perpendicular.

8.2. Despiece de la canal

El despiece de la canal es un procedimiento por el cual se obtienen las diferentes piezas de carne que la componen. Estas piezas derivan de distintos músculos o grupos musculares. La calidad de la carne difiere entre ellas en características como el porcentaje de grasa, el color o la ternura, y ello provoca diferencias en las preferencias del consumidor según el destino culinario de cada una de ellas (Sousa *et al.*, 2016). Al realizar el despiece se obtendrán también los porcentajes de carne, hueso y los recortes de grasa o aquellos derivados de tejidos no comercializables.

Aunque el despiece suele variar entre las zonas geográficas, debe existir un criterio unificador en el área científica con objeto de comparar los resultados. Aun así, existen variaciones entre los textos científicos, como sería el caso de las 20 piezas que proponen Carballo *et al.* (2000), las 22 que propone Albertí (2012) o las 24 que enumera el Ministerio de Agricultura y Pesca (2017). Según éste último, se presentan en la tabla 5 las piezas de la canal del vacuno y su categorización.

Tabla 5. Categorización de las piezas de la canal bovina según el valor comercial.

Pieza	Categorización	Pieza	Categorización
Lomo alto	EXTRA	Aleta	2
Lomo bajo	EXTRA	Brazuelo	2
Solomillo	EXTRA	Llana	2
Babilla	1A	Morcillo	2
Cadera	1A	Costillar	3
Contra	1A	Falda	3
Redondo	1A	Morrillo	3
Tapa	1A	Pecho	3
Tapilla	1A	Pescuezo	3
Aguja	1B	Rabo	3
Culata de contra	1B		
Espaldilla	1B		
Pez	1B		
Rabillo de cadera	1B		

Belew *et al.* (2003) llevaron a cabo un amplio estudio sobre la fuerza de cizallamiento de 40 músculos de la canal bovina, evidenciando diferencias significativas entre ellos, con valores que variaron entre los 2,03 kg del músculo diafragma y los 7,74 del *M. flexor digitorum superficialis*. De esta forma evidenciaban las enormes diferencias entre músculos y la importancia de las piezas comerciales en la toma de decisiones de la industria cárnica.

Existe una extensa bibliografía sobre la calidad de la canal del bovino. Cabe exponer la publicación de Albertí *et al.* (2008), en la cual estudiaron las características de la canal de toros jóvenes de 15 razas europeas, incluyendo razas cárnicas, lecheras y locales de cinco países diferentes. Para poder comparar los resultados de las variables de las canales llevaron a cabo un ajuste por regresión lineal con la edad. Cabe destacar que las variaciones entre razas son significativas para todas las variables estudiadas, poniendo de relieve la importancia del estudio de la canal en la caracterización productiva de cada raza o cruce industrial para su puesta en el mercado.

Otros estudios han corroborado las diferencias en las canales de bovino entre distintas edades (Warren *et al.*, 2008), sexos (Fortin *et al.*, 1980), pesos de sacrificio (Albertí *et al.*, 2005), dietas o sistemas de manejo (Moloney *et al.*, 2011; Lage *et al.*, 2012).

9. CALIDAD DE LA CARNE

La calidad de la carne es el conjunto de propiedades que la definen en su composición y en su palatabilidad. De cara al consumidor, serán fundamentales la apariencia, jugosidad, textura, sabor y olor (Muchenje *et al.*, 2009). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que según las preferencias regionales o del propio consumidor individual, la consideración de calidad puede variar enormemente (Lawrie, 1998).

Los atributos de calidad de la carne pueden determinarse instrumentalmente para eliminar las apreciaciones subjetivas mediante un muestreo adecuado. Sin embargo, estudiar la calidad de la carne en una especie como el bovino genera un problema de muestreo debido a que, como se mencionaba en el apartado anterior de la calidad de la canal, las diferentes piezas o músculos pueden variar en sus características físico-químicas. Así pues, los investigadores suelen utilizar músculos concretos con objeto de poder comparar los resultados de investigación. Podría aseverarse que el *M. longissimus dorsi* es el más utilizado, debido a que es un músculo extenso que tiene un fileteado cómodo: pueden dedicarse secciones del mismo a diferentes analíticas; es fácilmente extraíble de la canal; y es de primera categoría y, por tanto, representativo del valor comercial de la canal (Sañudo *et al.*, 2000a).

Como quiera que sea, la calidad de la carne debe ser un aspecto importante para la puesta en valor de los productos del Marismeño, con la consecuente implicación que esto tiene en su conservación.

9.1. Transformación del músculo en carne

Cuando un animal es sacrificado, en los músculos comienza un proceso bioquímico en el cual la falta de oxígeno desata la utilización de la ruta anaerobia para la obtención de energía. Este proceso se denomina glucólisis *post-mortem* y es fundamental para la transformación del tejido en carne. Durante esta fase, el glucógeno de reserva en el músculo es utilizado por la glucólisis anaeróbica, lo que genera ácido láctico que disminuye el pH hasta que éste inactiva las enzimas que realizan el proceso de glucólisis y/o la refosforilación de ADP en ATP (England *et al.*, 2013). El resultado final, en condiciones normales, es la bajada del pH hasta 5,4 - 5,5 (Warriss, 2000). El pH alcanzado dependerá de factores como la especie, el tipo de músculo o la variabilidad entre animales, y de factores exógenos como el estrés, el ejercicio o el ambiente previos al sacrificio (Lawrie, 1998).

Una vez que el músculo agota la energía comienza el proceso del rigor mortis, debido a que, en ausencia de esta molécula, los filamentos de actina y miosina quedan combinados de forma rígida. Posteriormente, tiene lugar la maduración, en la que destaca la acción de las enzimas calpaínas y calpastatinas. Las enzimas calpaínas tienen una acción proteolítica que será responsable en gran medida del ablandamiento de la carne (Shackelford *et al.*, 1994). Las calpastatinas son unas inhibidoras de la acción de las anteriores.

9.2. El pH y la calidad de la carne

La medición del pH en la carne tiene una especial relevancia, dado que, como se ha explicado anteriormente, si no se alcanza un pH final de la carne adecuado, se verán alterados muchos de los atributos de la calidad de la misma.

El pH también está estrechamente ligado a la capacidad de retención de agua (CRA) (Huff-Lonergan and Lonergan, 2005). Cuando el pH se acidifica, se acerca al punto isoeléctrico de la mayoría de las proteínas, como en el caso de la miosina, el cual es 5,4. En este punto, la falta de cargas hace que se reduzca la cantidad de agua que puede ser retenida.

También ha de destacarse el caso de la carne DFD en el bovino: carnes oscuras, firmes y secas. Este proceso se debe principalmente al estrés previo al sacrificio, lo que ocasiona que el animal agote las reservas de glucógeno en el músculo y, por tanto, no se produzca una adecuada glucólisis *post-mortem* y subsecuente disminución del pH. Como consecuencia, en estos casos, el pH se sitúa por encima de 5,8 (Viljoen *et al.*, 2002).

Por otro lado, el sistema de manejo de los animales también puede afectar el pH final, debido a que animales provenientes de sistemas extensivos o con un menor manejo pueden sufrir un mayor estrés pre-sacrificio (Muir *et al.*, 1998). Sin embargo, algunos investigadores como French *et al.* (2000a) no reportaron diferencias debido al sistema.

9.3. Color de la carne

El color de la carne puede considerarse como el factor más importante en la toma de decisiones del consumidor en el momento de su compra (Mancini and Hunt, 2005). Los consumidores prefieren, en general, carnes de color rojo brillante, rechazando aquellas de colores oscuros o pardos, aunque puede variar dependiendo de la región y de las técnicas de comercialización.

Los factores que pueden influir en el color de la carne, según Albertí (2000), son:

- El contenido en pigmentos del músculo, que a su vez puede variar según la especie, la raza, la edad, el sexo y el tipo de alimentación.
- Las condiciones previas al sacrificio, así como el tratamiento de las canales posteriormente, debido a la afectación del pH final de la carne.
- El almacenamiento y comercialización de la carne y su grado de oxigenación durante el mismo.

El principal pigmento responsable del color de la carne es la mioglobina, proteína similar a la hemoglobina y que se encarga de almacenar oxígeno en el músculo. Las formas químicas que adquiere esta proteína influyen en la coloración de la carne. Cuando se oxigena pasa a denominarse oximioglobina, y se torna de un color rojo brillante. Sin embargo, cuando se oxida prolongadamente da lugar a la metamioglobina, de color parduzco (Mancini and Hunt, 2005).

La medición del color de forma instrumental y objetiva en la calidad de la carne suele realizarse comúnmente mediante el espacio de color CIELAB (CIE, 1978), aunque existen otros métodos como la determinación del contenido de pigmentos y el uso de reflectómetros. El espacio CIELAB viene definido por tres coordenadas: L* o luminosidad que mide la cantidad de luz reflejada; a* o índice de rojos, cuyos valores positivos determinan el color rojo y los negativos, el verde; y b* o índices de amarillos, cuyos valores positivos determinan el color amarillo y los negativos, el azul. También se incluyen los índices H* o tono y el C* o croma, calculados a partir de los parámetros descritos.

En las carnes de bovinos manejados en extensivo es esperable encontrar valores bajos de L*, a* y b*, siendo el caso más extremo el de las carnes DFD, relacionado con un pH final elevado (Zhang *et al.*, 2005). Estos animales pueden, además, ser más susceptibles al estrés debido a un menor contacto con el ser humano (Muchenje *et al.*, 2009). Priolo *et al.* (2001) concluyeron que las reses alimentadas a pasto tenían una carne más oscura, lo que coincidía con una mayor edad de sacrificio. Lo cual podría relacionarse con carnes más rojas y oscuras por el aumento en la concentración de mioglobina (Boccard *et al.*, 1979; Lawrie, 1998), aumentado, en estos casos, el parámetro a*. Sin embargo, otros autores no han coincidido con estas conclusiones, encontrando valores similares o incluso mayores para los animales confinados (Vestergaard *et al.*, 2000a).

9.4. Jugosidad - Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua o CRA se define como la capacidad que tiene la carne para retener su agua constitutiva durante la aplicación de fuerzas extrañas o de tratamientos como el corte y el cocinado entre otros (Hamm, 1961; Zhang *et al.*, 2005). La CRA es un factor de suma importancia en la calidad de la carne, ya que afecta en gran medida a la jugosidad que presenta al masticarla (Lawrie, 1998).

La mayor parte del agua contenida por el músculo se encuentra en las miofibrillas, en los espacios que existen entre los filamentos de miosina y los de actina/tropomiosina. Otra pequeña fracción del agua se encuentra ligada por cargas eléctricas a las proteínas musculares, mientras que una tercera se encuentra libre y es fácilmente expulsable del músculo al aplicar fuerzas extrañas (Lawrie, 1998).

La CRA está estrechamente relacionada con el pH de la carne, de forma que cuanto más elevado sea el pH mayor será la capacidad de retener agua del músculo. Al aparecer el rigor mortis disminuye la CRA debido

a la formación de los complejos actomiosinas, los cuales tienen menor capacidad de retención que la actina y la miosina por separadas. Además, la pérdida de ATP y el inicio de la desnaturalización de algunas proteínas disminuye la CRA, lo que se suma al acortamiento del sarcómero y disminución del espacio disponible para el agua. Por otro lado, el punto isoeléctrico de las proteínas se sitúa entre un pH de 5,0 y 5,5, punto en el cual las proteínas tienen menores cargas eléctricas y la capacidad de retención de agua es mínima (Lawrie, 1998; Zhang *et al.*, 2005).

Con todo lo anterior, las mayores pérdidas de agua en la carne se producen durante el cocinado, superando incluso el 40% según Offer and Knight (1988). Por ello, Hamm (1986) propone cuatro formas de medir la capacidad de retención de agua de la carne según enumera Pla (2000):

- Pérdidas por goteo: determinadas por la formación de exudado sobre la carne, sin la aplicación de fuerzas externas.
- Pérdidas por descongelación: que originan un exudado sobre la carne, tras su congelación y descongelación.
- Pérdidas por cocinado: fluidos liberados tras el calentamiento de la carne.
- Jugo exprimible: mediante la aplicación de fuerzas externas originadas por métodos como la compresión, la centrifugación o la succión.

La CRA está influenciada por los tipos de fibras musculares, así como por el aumento del desarrollo muscular. Esta relación es interesante en el caso de razas con hipertrofia muscular hereditaria o “carácter culón”, como sería el caso de la raza Asturiana de los Valles (Aldai *et al.*, 2006). En este tipo de razas se produce una disminución de la CRA y el consiguiente aumento de las pérdidas por contracción y exudado. Esto podría ser debido a multitud de efectos, como un mayor metabolismo glicolítico, diferencias en la estructura del colágeno, o el bajo contenido en grasa intramuscular (Uytterhaegen *et al.*, 1994; Gagnière *et al.*, 1997; Oliván *et al.*, 2004; Muchenje *et al.*, 2009). A partir de estos efectos se deduce la importancia relativa que pueden tener factores como la raza, el tipo de músculo, el sexo, la edad y la alimentación, entre otros.

9.5. Textura

La textura es un conjunto de sensaciones mediante las cuales el consumidor establece la ternura o, lo que es contrario, la dureza de la carne. Su definición es muy compleja, aunque puede ser válida la de Szczesniak (1963), quien la define como “la manifestación sensorial de la estructura del alimento frente a la aplicación de fuerzas”.

Es el principal atributo de la carne que hay que tener en cuenta en el momento del consumo. De hecho, determina el valor de la carne despiezada, por la potencial diferencia de terneza entre las piezas comerciales, considerándose las de categoría extra, como el solomillo o el lomo, de superior precio a las de primera, y así entre el resto de categorías, sucesivamente (Lawrie, 1998; Asenjo, 1999).

De forma general, la textura está determinada por las estructuras miofibrilares, variando con el tipo de fibras musculares y por el tejido conectivo según la cantidad de colágeno presente en las diferentes estructuras (Wheeler and Koohmaraie, 1991; Muir *et al.*, 1998). Ambas pueden ser influenciadas por factores antemorten y postmortem en el tratamiento de las canales y carnes.

Boccard *et al.* (1979) demostraron importantes diferencias en la terneza de la carne entre razas al comparar la Holstein-Friesian con la Afrikaner. Evidenciaron que la carne procedente de razas de aptitud láctea es menos tierna que las de aptitud cárnica. Sin embargo, en estudios posteriores entre razas cárnicas, no se han podido clarificar efectos concretos de la raza en la textura. Es el caso de Vieira *et al.* (2007), quienes, al estudiar diferencias entre Limousine, Brown Swiss y Asturiana de los Valles, encontraron solo leves efectos de la raza en las características sensoriales de la carne.

Muir *et al.* (1998) realizaron una amplia revisión de la bibliografía sobre el efecto de los sistemas de alimentación basados en forraje o grano. Destacan que la edad de los animales puede ser relativamente importante, pero que la terneza de la carne está determinada en mayor medida por el peso y estado de engrasamiento, concluyendo que los animales alimentados a grano tienden a presentar carnes más tiernas. Por el contrario, la mayoría de los estudios no reportan diferencias importantes entre el tipo de alimentación cuando peso y engrasamiento son similares (Muir *et al.*, 1998).

El acondicionamiento o maduración de la carne es uno de los procesos que mayor influencia tiene en la terneza, aumentando la blandura de la carne. Se define como el mantenimiento de la carne sin procesar por encima de su punto de congelación, en ausencia de alteración microbiana (Lawrie, 1998). En este periodo tienen lugar cambios degenerativos que, si no son detenidos, dan lugar a la degradación total y a que la carne sea incomedible. Durante el acondicionamiento se desnaturalizan las proteínas del sarcoplasma y las miofibrillas, y la estructura formada por los complejos de actomiosinas en el rigor comienza a descomponerse. También influyen mecanismos enzimáticos como el de la proteinasa calcio-dependiente denominada calpaina, inhibida a su vez por las calpastatinas, y que ejerce su acción en la línea Z en las primeras fases de la maduración (entre los 3 y los 4 días postmortem). Posteriormente, otro sistema enzimático, el de los lisosomas, a través de las catepsinas, entra en acción (a partir de los 6 días postmortem) provocando la proteólisis de múltiples proteínas miofibrilares. Otros agentes implicados son el complejo proteinasa multicatalítico y las caspasas asociadas a los procesos de apoptosis celular (Lawrie, 1998; Koohmaraie and Geesink, 2006; Kemp and Parr, 2012). Este proceso es fundamental para obtener

carnes tiernas, sobre todo en el caso de carnes destinadas a la restauración que provienen de razas rústicas no seleccionadas y que sin esta fase previa presentarían niveles de dureza demasiado altos (Asenjo, 1999).

9.6. Composición química de la carne

En la composición química de la carne, en términos generales, el agua es el componente en mayor proporción, con un 75%. Le siguen, en orden decreciente, la proteína (21-22%), las grasas (1-2%), las sustancias minerales (1%,) y los carbohidratos (<1%) (Oliván *et al.*, 2000). No obstante, estos valores pueden variar considerablemente dependiendo de diferentes factores. Las variaciones en la composición química dependen de factores como la raza, el estado fisiológico, el sexo, la edad y el sistema de alimentación, entre otros.

De los componentes mencionados, la grasa se refiere al contenido intramuscular (IMF), toda vez que la grasa en el tejido adiposo (como la grasa subcutánea) representa más del 99% de su composición. La importancia de la grasa intramuscular radica en ser el componente que presenta mayores variaciones y, por tanto, tiene especial relevancia en la calidad de la carne, ya sea en plano nutricional o dietético, como en el sensorial, ya que participa en la ternura, succulencia y aroma de la carne. Según Listrat *et al.* (2016), las diferencias en el porcentaje de IMF varían entre el 0,6% de la raza Belgian Blue y el 23,3% hallado en la Black Japanese.

En un proyecto de investigación realizado con 10 razas bovinas españolas y francesas, Sañudo *et al.* (2000b) demuestran importantes variaciones dentro y entre las razas y los diferentes sistemas en los que se producen. Los valores de grasa intramuscular entre las razas encontrados variaron entre un 0,99% para la raza Asturiana de los Valles y un 3,48% en la Retinta. Además, dentro de las razas, los coeficientes de variación superaron el 0,5 en algunos casos, lo que ejemplifica la variabilidad de este componente de la carne. Las variaciones debidas al genotipo de los animales se ven fácilmente reflejadas en el caso del gen de la miostatina, variando la grasa intramuscular más de un 1% entre los homocigotos (Aldai *et al.*, 2007).

De cualquier modo, todos estos procesos son de suma importancia a la hora de conseguir carnes de calidad desde una raza feral de manejo estrictamente extensivo como la Marismeña.

10. PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

La preocupación, en los últimos años, por el efecto de la ingesta de ácidos grasos saturados en la dieta (entre otros tipos de grasas), así como sus efectos adversos para la salud humana, ha promovido una percepción negativa de los consumidores sobre algunos productos de origen animal, como es el caso de la carne de vacuno (Daley *et al.*, 2010). Esto se debe, principalmente a los bajos niveles de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y a los altos niveles de los saturados (SFA) que se dan en estas carnes. Los últimos, tras su ingestión, provocan el incremento de las lipoproteínas de colesterol de baja densidad (LDL), que, a niveles elevados, conllevan riesgo de enfermedad cardiovascular (Scollan *et al.*, 2006). Sin embargo, no todas las carnes de vacuno tienen los mismos perfiles de ácidos grasos. Al igual que las variaciones en el porcentaje de grasa intramuscular, los perfiles presentan importantes diferencias dependiendo de factores como la dieta, la raza, el sexo y la edad de los animales (Scollan *et al.*, 2014; Sevane *et al.*, 2014b).

Los lípidos se definen como el conjunto de moléculas insolubles en agua que se pueden extraer de las células a través del uso de solventes orgánicos con baja polaridad, como el éter. Dentro de este grupo se encuentran las grasas: ésteres carboxílicos derivados de un único alcohol, el glicerol, HOCH₂-CHOH-CH₂OH, y conocidas como glicéridos. El componente principal de estas grasas son los ácidos grasos: ácidos carboxílicos compuestos por una cadena lineal y continua que contiene entre 2 y 36 átomos de carbono.

Es necesario diferenciar la grasa que proviene de la carne en sí, es decir, del propio músculo, la cual se denomina grasa intramuscular, de las grasas que provienen del tejido adiposo subcutáneo. En general, la carne de vacuno se consume sin la grasa subcutánea, por lo que esta revisión se centra en el perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular.

En el caso de los rumiantes la deposición de lípidos es compleja debido, en gran medida, al metabolismo ruminal. En el rumen se llevan a cabo dos procesos sobre la grasa, la lipólisis y la biohidrogenación, que modificarán el perfil de ácidos grasos incluidos en la dieta de cara a la posible absorción intestinal (Wu *et al.*, 1991). El proceso de lipólisis consiste en una hidrólisis sobre los diferentes lípidos, producida por los microorganismos ruminales (bacterias y protozoos), dando lugar a la liberación de ácidos grasos. Parte de los productos de la hidrólisis se transforman en ácidos grasos volátiles que son absorbidos por las paredes ruminales. El proceso de biohidrogenación de los ácidos grasos insaturados dará lugar a productos intermediarios con importantes funciones metabólicas. El producto final de dicho proceso son ácidos grasos saturados (Jarvis and Moore, 2010).

10.1. Ácidos grasos saturados

La carne de los rumiantes, debido principalmente a la mencionada biohidrogenación, es rica en SFA y, por tanto, tiene un ratio PUFA/SFA bastante bajo en comparación con las carnes de los no rumiantes (French

et al., 2000b). Los ácidos grasos saturados que se presentan en mayores porcentajes en la carne de vacuno son el 16:0 y el 18:0 en orden decreciente (Rule *et al.*, 2002). Sin embargo, las recomendaciones de consumo en humanos son totalmente opuestas para cada uno de ellos. El 16:0 se considera un ácido graso hipercolesterolémico, mientras que el 18:0 no tiene efecto sobre el aumento de la LDL (Dias *et al.*, 2008). Existen evidencias de que la sustitución de los SFA (12:0 - 16:0) por PUFA disminuye la concentración de LDL y la relación del colesterol total / colesterol HDL. El efecto es menor cuando se sustituyen por MUFA. Además, la sustitución en la dieta de los SFA mencionados por PUFA disminuye el riesgo de enfermedad coronaria (FAO, 2008).

10.2. Ácidos grasos monoinsaturados

De los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA), el 18:1 *c*-9 es el máximo exponente en la carne de bovinos. De hecho, es el ácido graso en mayor porcentaje, lo que se debe a la síntesis *de novo* de ácidos grasos y la síntesis por parte de la Δ 9 desaturasa en el tejido. Los MUFA tienen una acción importante en la dieta humana, por disminuir el colesterol LDL y aumentar el HDL (FAO, 2008), muy alabada en las dietas ricas en aceite de oliva, cuya concentración de 18:1 *c*-9 (oleico) es muy elevada.

10.3. Ácidos grasos poliinsaturados

El grupo de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) es de especial relevancia debido a que algunos son considerados esenciales, es decir, indispensables para la fisiología del ser humano, pues no pueden ser sintetizados por el organismo y deben ser aportados en la dieta. Se pueden dividir en dos familias, según la situación del primer doble enlace en la cadena de carbonos: los n-6 (omega-6), derivados del 18:2 n-6 (ácido linoleico, LA) y los n-3 (omega-3), derivados del 18:3 n-3 (ácido α -linolénico, ALA) (FAO, 2008). De los derivados provenientes de la desaturación y elongación de LA y ALA, destacan ácidos grasos de cadena larga con importantes funciones en el organismo, como son el 20:4 n-6 (araquidónico, AA), el 20:5 n-3 (eicosapentaenóico, EPA) y el 22:6 n-3 (docosahexaenóico, DHA). A pesar de ser rutas diferentes, las enzimas que actúan en el proceso son las mismas, por lo que existe competencia entre las series. En el caso de la dieta humana, al ser predominante en LA, los derivados de la familia n-6 tienden a estar presentes en niveles más altos (FAO, 2008).

Los ácidos grasos de la serie n-3 han sido ampliamente estudiados por sus beneficiosas propiedades para la salud humana, mientras que el AA de la serie n-6 es conocido por ser el precursor de citocinas proinflamatorias. Al contrario que este último, EPA y DHA son capaces de modular positivamente la respuesta inmune e inflamatoria y de prevenir enfermedades de tipo inflamatorio (Gil, 2002; Grosso *et al.*, 2016). Además, estudios sobre una dieta rica en estos ácidos grasos han demostrado también una menor

prevalencia de depresiones y desordenes bipolares (Simona Noaghiul and Joseph R. Hibbeln, 2003; Bourre, 2007) y efectos en la prevención del cáncer (Daley *et al.*, 2010; McAfee *et al.*, 2010).

Por lo expuesto anteriormente, es importante mantener un cociente elevado de PUFA/SFA en la dieta, lo que es complicado en la carne de vacuno debido a que suele presentar valores por debajo de 0,1, cuando lo recomendable serían valores por encima de 0,5 (Scollan *et al.*, 2006; Scollan *et al.*, 2014). También debe prestarse especial atención a la fracción n-6/n-3 que debería moverse en valores recomendados: 5/1 (Razminowicz *et al.*, 2006).

10.4. Ácido linoleico conjugado

Entre otros componentes del perfil lipídico, cabe mencionar el ácido linoleico conjugado o CLA, nombre que engloba varios tipos de isómeros de posición y geométricos del ácido linoleico, como el 18:2 c-9, t-11 (ácido ruménico) y el 18:1 t-10, c-12 (Alfaia *et al.*, 2006). A diferentes isómeros se les atribuyen efectos beneficiosos en la salud humana, como es el caso del ruménico que ha demostrado efectos anabólicos y antiinflamatorios. También se han demostrados efectos antiobesidad, anticarcinogénicos y antidiabéticos en modelos animales, aunque parecen ser menos significativos en humanos (Viladomiu *et al.*, 2016).

10.5. Factores que afectan el perfil de ácidos grasos en la carne de bovino

La raza es un factor destacable como modulador del perfil lipídico de la carne. A grandes rasgos, se pueden matizar dos grupos principales: uno de razas de crecimiento rápido o seleccionado, las cuales depositan mayores cantidades de grasa y a edades tempranas, y otro de crecimiento o desarrollo tardío, cuya deposición grasa es menor (Scollan *et al.*, 2006). Estas variaciones en la deposición grasa conllevan también modulaciones del perfil lipídico, de forma que los animales con mayor cantidad de grasa tienden a presentar mayores proporciones de SFA y MUFA, disminuyendo la cantidad de PUFA, dado que este último está presente, en gran medida, en las membranas celulares (Sevane *et al.*, 2014b).

En un amplio estudio sobre 15 razas europeas, Sevane *et al.* (2014b) encontraron importantes diferencias entre ellas. Son resultados similares a los de Brugiapaglia *et al.* (2014), quienes también hallaron divergencias en su trabajo sobre las razas Piamontesa, Limousin y Frisia. Sin embargo, estas investigaciones adolecen de estudiar razas provenientes de diferentes sistemas de manejo y alimentación, así como el sacrificio de los animales a distintas edades o pesos, por lo que es complicado referir los resultados a un factor aislado como la raza o, más específicamente, el grupo genético de los animales. Las diferencias generales entre razas, por tanto, suelen deberse más bien al sistema en el cual se producen, así como a las

edades o pesos de sacrificio, lo que puede alterar la cantidad de grasa intramuscular y, por tanto, el perfil de ácidos grasos (Muchenje *et al.*, 2009).

Sin embargo, Papaleo Mazzucco *et al.* (2016), a partir de las razas Angus, Hereford y de los cruces entre ellas, criados en las mismas condiciones, fueron capaces de aislar el factor raza. No encontraron afectaciones en las variables de la calidad de la carne, mientras que sí reportaron diferencias en la composición de los ácidos grasos, siendo interesantes las halladas para los porcentajes de SFA, LA, ALA, PUFA, n-6 y n-3.

Dinh *et al.* (2010) también obtuvieron resultados significativos al estudiar el perfil lipídico de animales de la raza Angus, Brahman y Romosinuano, engordados experimentalmente bajo las mismas condiciones. La primera raza arrojó un porcentaje de IMF de más del 7%, cuando las otras se mantuvieron en porcentajes cercanos al 3%. Como se mencionó anteriormente, el alto porcentaje de IMF en la carne de Angus la diferenció en el perfil, mostrando una mayor proporción de SFA y menor de PUFA, mientras que, entre las otras dos razas, los ácidos grasos mayoritarios presentaron porcentajes similares.

Las diferencias entre razas pueden estar basadas en distintos genotipos que modifican la capacidad enzimática de actuar sobre los ciclos de transformación de los ácidos grasos, como demostraron Bressan *et al.* (2011). En este estudio entre dos grupos genéticos, *Bos indicus* y *Bos taurus*, ambos terminados en dos sistemas, fueron capaces de concluir diferencias en la capacidad de desaturación de ambos, relacionadas con distintos niveles de actividad enzimática de la esteroil-CoA y la elongasa.

Por otro lado, los cambios en el perfil lipídico debidos al sexo de los animales suelen estar relacionados con las diferencias en la fisiología y el metabolismo, por lo cual las hembras, en general, tienden a depositar mayor cantidad de grasa (Lawrie, 1998). Además, los contenidos de grasa intramuscular entre sexos pueden variar para los diferentes músculos, dado que en el desarrollo existen diferencias corporales propias del dimorfismo sexual. A pesar de lo mencionado, pocos estudios en bovino se centran en estudiar este factor. Cabe destacar el trabajo de Costa *et al.* (2006) sobre la raza Barrosã, en el que además de incluir animales de ambos sexos estudia el perfil de diferentes músculos. Los resultados hallados demostraron diferencias debidas al sexo, pero que no eran constantes entre los diferentes músculos.

Sin lugar a dudas, puede afirmarse que el sistema de producción de los animales y lo que ello implica, como el grado de energía consumida, tipo de alimentación y cantidad de ejercicio, entre otros factores, determinará en gran medida el perfil de ácidos grasos (Vestergaard *et al.*, 2000a; Vestergaard *et al.*, 2000b). El balance energético determinará la cantidad de grasa que el animal puede depositar como reserva, partiendo de un mínimo necesario para el mantenimiento del estado fisiológico normal, lo que se refiere a los lípidos que forman parte de las estructuras celulares (Lawrie, 1998).

Las diferencias entre los sistemas de producción han sido ampliamente estudiadas, sobre todo en lo que atañe al manejo de los animales en intensivo frente a extensivo, o alimentados a grano frente a forrajes. En términos generales, los animales alimentados a base de forraje o pastos presentan mayores porcentajes de PUFA, menor cociente n-6/n-3 y mayores porcentajes de CLA (Realini *et al.*, 2004; Humada *et al.*, 2012). Las variaciones entre las series n-6 y n-3 se deben, principalmente, a la composición de la dieta y el contenido en su precursor, siendo el 18:2 n-6 el ácido graso mayoritario en el grano, mientras que el 18:3 n-3 es el mayoritario en la hierba o forraje (Manner *et al.*, 1984).

Los cambios en el perfil entre sistemas también están muy relacionados con la cantidad de grasa intramuscular, como es el caso del trabajo de Realini *et al.* (2004), en el cual hallaron un valor medio de 1,68% en la carne de pasto frente al 3,18% de la carne de los animales alimentados con concentrado. Bressan *et al.* (2011) demostraron también enormes diferencias para esta variable entre sistemas de pasto y grano, con un 3,16% frente a un 7,65%. Además, las relaciones entre la grasa total y el perfil de ácidos grasos quedan bien definidas en este último artículo al correlacionar el porcentaje de IMF con los grupos SFA (correlación positiva inferior a 0,5), MUFA (no correlacionado) y PUFA (correlación superior al 0,7).

La alimentación de animales a pasto, por tanto, supone una mejora del perfil de ácidos grasos, desde el punto de vista nutricional para la salud humana (Alfaia *et al.*, 2009). Debe considerarse como un plus de calidad que aporta beneficios añadidos al sector ganadero que utiliza este tipo de sistema, el cual, en términos productivos y económicos, tiene complicado competir con el cebo convencional de pienso.

11. MARCADORES MOLECULARES

Los marcadores moleculares comenzaron a explorarse en 1980 y han sido ampliamente estudiados. Sin embargo, fue en la década de los 90 cuando comenzaron a usarse, con el objetivo de llevar a cabo una transformación de la selección genética mediante la cuantitativa hacia una selección genómica. Desde entonces, uno de los mayores desafíos en el área ha sido encontrar marcadores de genes que estén relacionados con la variación fenotípica en los animales de producción (Singh *et al.*, 2014).

Por otro lado, el uso de esta tecnología es complejo debido a que genera importantes costes y requiere de estudios constantes que posibiliten su puesta en marcha en programas de mejora. Además, en muchos casos necesita de una aplicación específica para cada raza o programa de selección (Barillet, 2007).

Singh *et al.* (2014) definen los marcadores moleculares como una variación específica del ADN entre individuos, a la cual se han asociado ciertas características. Entre las variaciones de bases de ADN se incluyen inserciones, deleciones, translocaciones, duplicaciones y mutaciones puntuales. Tienen un amplio abanico de aplicaciones como la filiación, la determinación de distancias genéticas, la determinación de enfermedades hereditarias y la selección asistida por marcadores (MAS).

Aun con todo el potencial posible, la implantación del uso de la MAS no ha sido ni tan intensiva ni tan rápida como parecía. Por ello, en los últimos años se han realizado multitud de estudios de diferentes partes del mundo para esclarecer las relaciones de los marcadores con variables productivas y hallar nuevos marcadores (Williams *et al.*, 2009).

El estudio de Dunner *et al.* (2013) sobre 15 razas bovinas europeas, puso de manifiesto la gran cantidad de asociaciones posibles entre los marcadores y las variables productivas y de importancia para la calidad de la canal y la carne. Testaron 389 SNPs de 206 genes candidatos, pero solo 42 de ellos, pertenecientes a 20 genes, mostraron relaciones con las variables estudiadas.

En el caso de las razas locales, sobre las que se ha ejercido una baja presión selectiva, estos marcadores ofrecen interesantes oportunidades, dada la mayor variabilidad genética esperada para los caracteres productivos. Sorbolini *et al.* (2017) investigaron las asociaciones entre SNPs y los caracteres productivos en la raza autóctona italiana Marchigiana mediante un chip Illumina 50K, encontrando múltiples asociaciones para variables como la ganancia media diaria, el peso de la canal y el pH de la carne.

La aplicación en razas autóctonas con censos disminuidos y con poca especialización productiva puede parecer demasiado ambiciosa. No obstante, hallar marcadores relacionados con caracteres importantes, en la producción o en la calidad de los productos, puede abrir una vía de selección de animales destinados a abastecer el mercado de marcas de calidad distinguida. También podría ser interesante para razas rústicas que comúnmente se utilizan en cruces industriales para la producción cárnica.

A COMPARISON OF THE GROWTH PERFORMANCE BETWEEN CATTLE REARED IN CONVENTIONAL SYSTEMS AND IN FERAL CONDITIONS

Sergio Nogales, Juan Calderón, Teresa Marta Lupi, Maria Cristina Bressan, Juan Vicente Delgado, María Esperanza Camacho. 2017. A comparison of the growth performance between cattle reared in conventional systems and in feral conditions. *Livestock Science*, 206, 154-160. ISSN 1871-1413. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.10.026>.

ABSTRACT

Feral and conventional growth performances were compared using Marismeña cattle as a model. Marismeña calves are commonly reared under feral conditions in one of the most important reserves of Europe (Doñana National Park, Spain). Data recording in these natural conditions faces compromises as animals are only handled once per year. This fact has to be saved to obtain efficient estimations for the biological growth curve of cattle reared under feral conditions. On the one hand, we assessed the inference of the theoretical influence of human management on cattle growth. On the other hand, we studied the fitness of the best growth curve, in both feral and conventional systems to use the physiological meaning of the parameters obtained from their study as selection criteria related to the adaptability of potential breeding males and females. Fitting of Brody's, von Bertalanffy, Verhulst, logistic, Gompertz and Richards' models was tested as these models are the most representative ones for cattle growth. In general, Brody's and Richards' models presented the best fitting values for the biological curve. According to the biological curve parameters, males and females presented asymptotic weights of 641.71 kg and 403.55 kg, respectively. As expected, the results of the commercial growth curve severely differed from those of the biological curve. The best fitting biological curve was not representative for cattle reared under commercial conditions. The logistic model was the best fitting one for feral females, Gompertz model for feral males, and Verhulst for intensive males and females, respectively. Seasonal oscillations in feeding may be responsible for the earlier achievement of the best performance in feral cattle (7 and 10 months for males and females, respectively), while such best performances were reached at 11 months in intensive calves, what becomes relevant for management and slaughtering decision-making. The study of the biological curve in Marismeña feral breed is very illustrative as this is the first time that feral cattle's growth is approached. Knowledge on the biological growth curve parameters could be used to interpret the strong relation between feral animals and their environment. This research could infer a model to quantify the effects of human management on livestock development, as feral resources offer unique opportunities to study domestic livestock without any human influence.

KEYWORDS: natural growth; non-linear models; biological growth curve; commercial growth curve.

INTRODUCTION

To our knowledge, the lack of references to studies on meat production in feral breeds in literature, may probably be attributed to the difficulty to obtain significant data, in a matter of quantity and quality. However, there is a great potential in the market for such production because of the increasing demands for food produced under environmentally sustainable conditions. Indeed, this increasing interest on the products deriving from these breeds could be attributed to such products being considered extremely natural by consumers. Our studies on the growth, carcass and meat quality of the feral Marismeña breed intends to configure a translatable model for other international feral breeds, which may become a potentially good source of profit, through the use of differentiated trademarks for feral products.

Marismeña cattle breed is reared under feral conditions in the Doñana National Park, a nature reserve located in the southwest of Spain, which is considered as one of the most important of Europe. This breed has an international relevance because of its huge impact on the cattle colonization of the American continent, given their close location to the southwestern Spanish ports which monopolized the commerce routes between Spain and the colonies. The parallelism between the Marismeña breed and American Creole breeds was genetically confirmed by Martínez *et al.* (2012). Its small census, together with its geographic concentration near the Gibraltar straight, a hot point in terms of animal health, provides the breed with its extremely endangered status.

The National Association of Marismeña Cattle Breeders is the institution responsible for the management of the stud book of the breed. Animals are raised under feral conditions in the different sectors in the Park, keeping minimal contact with humans and feeding exclusively on what the environment provides them, as the strict rules of the park ban the addition of supplemented feeding or any other kind of animal handling. It is only during summer, when marshes dry, cattle units are collected, the removal of the surplus of animals occurs and the official sanitary inspection takes place. The exclusive handling labours comprise the identification tasks and the selection of the animals that will remain in the area. Animals discarded at this moment are highly appreciated by consumers in the region, because of the especially natural and healthy attributes of their meat (Calderón, 2008).

Given the especial conditions of animals reared under feral contexts, the data and results of the study of growth enclosed in the present paper were extremely difficult to collect because of the complexity of the husbandry system under which these animals are handled, as it exclusively enables weight measure collection during the annual handling sessions described above. In the same way, weight data collection

must be registered in the whole population gathered each time, even though it comprises individuals from both genders and at different ages.

The study of growth and the factors that modify it is important to evaluate the productivity of domestic animals (Hirooka, 2010). Growth can be defined as the increase in size or weight of an animal, thus 'true growth' would be the one accounting for the total increase in living matter of a certain animal (Warriss, 2000). Generally, growth graphically describes a sigmoid curve when we represent it as the relationship between age and weight. This curve presents three phases: the first phase or acceleration phase, accounts the highest weight gains. After a point of inflexion occurs; the second phase or deceleration phase begins. In this phase, the growth rate gradually decreases. Finally, a stabilization phase is reached. This stabilization phase coincides with adult weight (Fitzhugh, 1976). Nonlinear models have been used to study growth for decades. These models provide biologically interpretable parameters that can be used in animal breeding programs (Ratkowsky, 1983).

Given the particular husbandry technics considered in feral cattle, growth may only be inferred through population growth curves, because of the fact that individual repeated measures in a relatively short period of time are not available. Therefore, this research approaches growth curve in two different sceneries. First, the biological curve, defined as the weight gain described by the animals from birth to adulthood. Second, the commercial curve, which measures growth from birth to the commercial slaughter age. The two curves have different meanings but offer important information on livestock production practices, such as breeding, economy, nutrition, among others. The objective of this study was to determine the best nonlinear growth curve models for growth performance in Marismeña cattle breed under feral conditions, simultaneously considering a biological and a commercial scenery.

MATERIAL AND METHODS

Growth behaviour of the Marismeña breed was studied in two different stages. First, the growth of the animals from birth to maturity was assessed through the definition of the biological growth curve. Second, the best defining function for growth from birth to slaughtering, so-called commercial curve (Lupi *et al.*, 2015) was described, as it focuses on the economic interest of this growth stage. This curve finishes with a non-informative asymptotic period, as growth is artificially stopped at slaughtering (at an approximate age of 18 months in this breed). This age is chosen as births in the natural habitat in which this breed is reared are gathered in early Spring (March-April), so that at the end of the livestock collection period, in September-October, the most of the calves is an approximate age of 6 months. Since, according to the rules of the Park, animals under the age of 12 months are not considered in the number of animals each owner is allowed to maintain (inherited from one farmer generation to the following), farmers have the possibility

to leave the calves until the husbandry season of the following year, when they will be around 18 months of age. When they reach this age, if the animals are not going to be used for replacement of other vacant places, they must leave the Park and are usually sent to slaughterhouse for the commercialization of their meat. Occasionally, there are farmers who send their animals to feedlots after the first collection, when they are 6 months old because of the bad conditions that pasture may present during late summer.

Therefore, in the present study feral growth is approached using two different designs. The first design, uses individuals from both genders reared under feral conditions from birth to adulthood, with the aim of describing their biological and commercial curves, and a second design, comprising animals maintained under strict feral conditions from birth to 6 month of age, and later fattening for a period of 12 months in feedlots, to achieve the best fitting growth function under conventional handling conditions.

Rearing systems

In the feral system (FS), animals reared at the Park had continuous access to autochthonous forage. The most abundant and consumed species in the pasture were *Anthoxanthum ovatum*, *Vulpia membranacea*, *Chaetopogon fasciculatus*, *Anthemis cotufa*, *Tolpis barbata*, *Ornithopus sativus*, *Cynodon dactylon*, *Panicum repens*, *Juncus maritimus*, *Eleocharis palustris* and *Cressa cretica* (Lazo and Soriguer, 1993). In intensive systems (IS), animals were provided with a concentrate supplement comprising 39.8% corn, 17.8% barley, 12.1% soybean meal, 6.6% DDGS, 6.4% wheat bran, 6% gluten feed, 3% soybean hulls, 2.7% sorghum, and 5.4% vitamins and minerals, in addition to alfalfa hay which was supplied *ad libitum*. The amount of feed administered to the animals was fitted considering the live weight of the individuals, so that to provide animals with a daily average of 7.5 kg of concentrate divided in two rations per day, during the finishing period.

Recording for the biological growth curve

Weight records from Marismeña breed animals were collected during the cattle gathering season from 2004 to 2016 to determine the feral biological growth curve to study the growth from birth to maturity in their natural habitat (FS). We used an electronic scale to collect weight data. This electronic scale had a metal cabin with a double gate placed at the end of the handling sleeve. The observed weight values were recorded in a database to develop this study. The data file was purged to discard anomalous outlying weight values. Weights were grouped considering the age factor, in multiples of 30 days (1-30, 31-60, and so on), when it was possible because of data distribution. When groups did not present enough observations, groups were extended to 90 days and subsequently to 180 days, until the last class ranged between 5821 and 6000 days.

In each group, the values that were twice the standard deviation above and below the average weight were discarded. Finally, 3 884 weight observations (2 685 from females and 1 199 from entire males), from 1 043 animals (603 females and 443 entire males) were kept. The differences between the number of weight observations of each sex lie on the sexual ratio established by the regulations of the nature park.

Recording for the commercial growth curve

The commercial curve was studied considering the two types of commercialization of the calves that exceeded the nature park census capacity. On the one hand, animals reared under FS until their slaughtering age (16-20 months). On the other hand, animals raised under natural conditions until they were 6 months old and which were then transferred to a fattening station (IS) until they reached the slaughtering age (16-20 months). The same data set used to determine the biological curve was used to design the FS commercial growth curve, but only using the observations collected before 600 days of age (20 months). The IS commercial growth curve was studied by using the weights collected from a specific set of individuals from both genders kept under feral conditions up to 6 months and from the later weight observations of these animals when they were submitted to commercial feed in an experimental fattening lot until they were 18 months old. This lot data set consisted of 206 weight observations (99 from females and 107 from entire males) from 25 animals (12 females and 13 entire males). The data file was purged, eliminating anomalous outlying weight values. Grouping criteria sorted weight measures into periods of multiples of 30 days of age. Weight record data twice the standard deviation above or below the average were discarded.

Curve fitting

In all cases the models used for the statistical analysis were namely, Brody's, von Bertalanffy, Verhulst, logistic, Gompertz and Richards' as the most representative for cattle growth in literature (Hirooka, 2010). The respective mathematical expressions and biological parameters are shown in Table 1.

Table 1. Mathematical description of growth models, biological parameters and growth evaluators.

	Mathematical expression	Inflection weight	Inflection age	Growth rate
Brody	$y=A*(1-b*\exp(-k*t))$	-	-	$v_c = kA \left(1 - \frac{y}{A}\right)$
Von Bertalanffy	$y=A*(1-b*\exp(-k*t))^{**}3$	$y_i = \frac{8A}{27}$	$t_i = \frac{\ln(3b)}{k}$	$v_c = 3ky \left[\left(\frac{A}{y}\right)^{1/3} - 1\right]$
Verhulst	$y=A/(1+b*\exp(-k*t))$	$y_i = \frac{A}{2}$	$t_i = \frac{\ln(b)}{k}$	$v_c = ky \left(1 - \frac{y}{A}\right)$
Logistic	$y=A*(1+\exp(-k*t))^{**}(-m)$	$y_i = \frac{A}{2}$	$t_i = \frac{-\ln(2^{1/m} - 1)}{k}$	$v_c = mk \frac{y}{2} \left(\frac{e^{-kt}}{1 + e^{-kt}}\right)$
Gompertz	$y=A*\exp(-b*\exp(-k*t))$	$y_i = \frac{A}{e}$	$t_i = \frac{\ln(b)}{k}$	$v_c = ky \ln\left(\frac{A}{y}\right)$
Richards	$y=A*(1-b*\exp(-k*t))^{**}m$	$y_i = \frac{A}{(n+1)^{1/n}}$	$t_i = \frac{-1}{k \ln(n/b)}$	$v_c = \frac{-ky}{n} \left(\left(\frac{y}{A}\right)^n - 1\right)$

y = weight, in kg, at age t; t = age in days; A, b, k and m - parameters

Data were processed with the NLIN procedure from the SAS statistical package, using the method of Marquardt as the estimation procedure. Real weights and ages were compared to the results obtained from best fitted models.

The (A) parameter is theoretically defined as the asymptotic or mature weight reached when time tends to infinity. The (b) rate parameter is used in the calculation of the inflection age. The (k) parameter represents the rate of exponential growth. The (m) parameter accounts for the shape of the growth curve and, consequently, determines the inflexion point, the starting point of the auto-deceleration stage until animals reach adult size (Fitzhugh, 1976; Carolino and Gama, 1993).

The criteria used to choose the best fitted model for every data set, were the following:

1. The lowest value of mean square error (MSE) of the equation studied, as a measure which includes the variability of non-considered factors by the research.
2. The highest level of the determinative coefficient (Pseudo-R²). The use of the determinative coefficient (R²) in nonlinear models is not suitable as its use results in overestimated higher values (Lupi *et al.*, 2015). A mathematical approach is Pseudo-R² that can be computed as;

$$Pseudo-R^2 = 1 - \frac{SS_{Residual}}{SS_{Total_{corrected}}}$$

3. The lowest value of the Akaike Information Coefficient (AIC) considers changes in the fitness quality and the differences in the number of parameters between two models

$$AIC = N * \ln(SSE/N) + 2p$$

p = nº of parameters + 1

SSE = Sum of Squares of the Residuals

N = nº of observations

4. Biological coherence of the estimated parameters.

We used a sum of the square reduction test to compare a more complex four-parameter Richards' model to the rest of models (Schabenberger, 2017). This type of analysis can be performed to compare complex models and reduced models when the difference relies on the fact that the complex model consists of a greater number of parameters. In this study, the function of Richards', with 4 parameters, was compared to the other functions only including 3 parameters. Although complex models with a greater number of

parameters, such as Richards' model, can report better fitness properties, the differences obtained could not be significant, which suggests the use of simpler ones.

RESULTS

Biological growth curve

Table 2 shows the adjustment results of the biological curve data to different models. All models showed convergence and very similar adjustment values.

Table 2. Estimated parameters for each model in the study of the biological growth curve for both genders in Marismeña cattle breed

Model / Sex	A (s.e.)	b (s.e.)	m (s.e.)	k (s.e.)	Pseudo-R ²	m.s.e.	AIC
Brody's							
F	403.55 (1.48)	0.913 (0.009)	-	0.0015 (0.0000)	0.8487	1 970	20 373.1
M	641.71 (8.03)	0.941 (0.005)	-	0.0009 (0.0000)	0.9121	2 092	9 172.3
Von Bertalanffy							
F	399.89 (1.39)	0.459 (0.007)	-	0.0019 (0.0000)	0.8463	2 002	20 416.2
M	604.47 (5.98)	0.514 (0.005)	-	0.0014 (0.0000)	0.9090	2 165	9 213.6
Verhulst							
F	395.25 (1.31)	3.465 (0.103)	-	0.0028 (0.0001)	0.8384	2 105	20 551.0
M	574.78 (4.95)	4.826 (0.120)	-	0.0024 (0.0001)	0.8955	2 486	9 379.5
Logistic							
F	396.82 (1.33)	-	2.320 (0.041)	0.0024 (0.0000)	0.8419	2 059	20 492.1
M	585.00 (5.21)	-	2.749 (0.036)	0.0019 (0.0000)	0.9024	2 323	9 297.8
Gompertz							
F	398.49 (1.36)	1.712 (0.032)	-	0.0021 (0.0000)	0.8445	2 026	20 447.7
M	593.79 (5.53)	2.014 (0.027)	-	0.0016 (0.0000)	0.9061	2 235	9 251.5
Richards'							
F	404.66 (1.68)	0.962 (0.028)	0.868 (0.073)	0.0014 (0.0001)	0.8489	1 969	20 372.8
M	643.09 (11.95)	0.945 (0.026)	0.984 (0.091)	0.0009 (0.0001)	0.9121	2 093	9 174.2

s.e.: standard error; pseudo-R²: non-linear determinative coefficient; m.s.e.: mean square error; AIC: Akaike information coefficient.

F: female; M: Male.

The determinative coefficient (pseudo-R²) presented very high values for males (≥ 0.9), while the results for females showed close to 0.85 values for all models. Brody's and Richards' models presented the best fitting values. For females, Richards' model was the best fitting one, according to the established criteria. For males, Richards' model showed a slightly better value for pseudo-R² than Brody's model, which obtained lower values for MSE and AIC.

Since Richards' model was more complex (comprising 4 parameters) than Brody's model (comprising 3 parameters) a sum of squared reduction test was used to check whether the fitting differences obtained from both models were significant enough to justify the use of a more complex model instead of a simpler one. Since the F test did not show significant differences between Richards' and Brody's models ($p > 0.05$) (table 3), Brody's was considered the most suitable method to describe the biological growth curve of the breed for males and females.

Table 3. Partial F test for Richards' model vs. other models of biological growth curve of Marismeña cattle breed.

Sex	Full model	Reduced model	F value	P-value
Female	Richards'	Brody's	2.33	0.1273
		Gompertz	77.98	<0.0001
		Logistic	123.93	<0.0001
		Verhulst	186.17	<0.0001
		Von Bertalanffy	45.79	<0.0001
Male	Richards'	Brody's	0.03	0.8588
		Gompertz	81.67	<0.0001
		Logistic	131.97	<0.0001
		Verhulst	225.53	<0.0001
		Von Bertalanffy	41.91	<0.0001

Biological curve parameters are shown in table 2. The (A) parameter or asymptotic weight was 641.71 kg in males, and 403.55 kg in females. The value for the (b) parameter reported for males was slightly higher than the one reported for females, while (k) parameter described the opposite trend, reporting higher values in the case of females. Males presented a higher weight than females at all growth stages, although the slope of the curve and the differences between sexes were extremely slight up to 250 days of life, as it could be observed in the graphic representation of the biological curves for males and females (Figure 1). The difference in weight at birth between both genders was 7.81%. In this sense, predicted weights at relevant moments are presented in table 4.

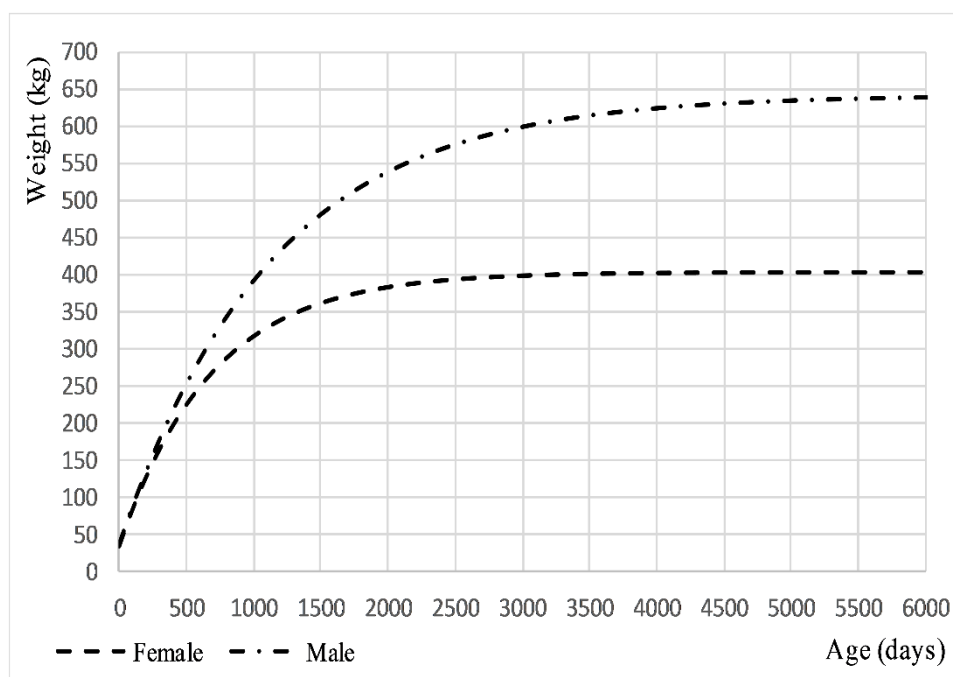


Figure 1. Comparison of biological growth curves for Marismeña cattle males and females, using the weight values predicted with Brody's model.

Table 4. Predicted weights at relevant biological moments.

Moment	Age (days)	Female	Male
Birth	0	35.06	38.02
3 months	90	80.21	84.15
6 months	180	119.84	126.75
1 year	365	186.70	204.37
1.5 years	540	235.37	267.00
2 years	730	275.93	324.88
3 years	1095	328.45	412.19
4 years	1460	359.36	475.43
5 years	1825	377.54	521.25

Commercial growth curve

The results for the commercial growth curve severely differed from those of the biological one, mainly because of the fact that only the first growth periods were considered. We found no convergence in commercial growth curve with Richards' model for the IS and FS designs. The commercial Brody's model parameters in intensive animals did not report biological coherence for both sexes as well, so the two

models were discarded in the study of the commercial growth curve behaviour. Brody's model also presented extremely high values for (A) parameter in the feral system for both sexes, and a very high standard error. A summary of the results for the best fitting of the operative models is shown in table 5.

FS data reported values over 0.7 for the determinative coefficient (Pseudo-R²) of the four remaining models. as in the biological curve study, values for males (0.77) were higher than those for females (0.73). With IS data, Pseudo-R² showed values over 0.8 for the remaining four models, but in this case, the values presented by females (0.90) were slightly higher than those presented by males (0.89).

Table 5. Estimated parameters for each model in the study of the commercial growth curve for both systems and sexes of Marismeña cattle breed.

Model	A (s.e.)	b (s.e.)	m (s.e.)	k (s.e.)	Pseudo-R2	m.s.e.	AIC
Feral system							
Brody's							
F	358.09 (31.58)	0.928 (0.014)	-	0.0019 (0.0003)	0.7373	1 219.0	5 405.4
M	816.90 (259.30)	0.954 (0.009)	-	0.0007 (0.0003)	0.7728	1 423.2	5 864.3
Von Bertalanffy							
F	289.83 (12.78)	0.503 (0.016)	-	0.0037 (0.0004)	0.7386	1 213.1	5 401.7
M	433.69 (38.89)	0.525 (0.009)	-	0.0024 (0.0003)	0.7731	1 421.6	5 863.4
Verhulst							
F	253.86 (5.78)	4.413 (0.308)	-	0.0074 (0.0005)	0.7387	1 212.4	5 401.3
M	328.98 (12.37)	4.807 (0.216)	-	0.0058 (0.0004)	0.7729	1 422.8	5 864.1
Logistic							
F	264.75 (7.52)	-	2.641 (0.104)	0.0057 (0.0004)	0.7390	1 211.4	5 400.7
M	358.52 (18.54)	-	2.770 (0.064)	0.0042 (0.0004)	0.7731	1 421.6	5 863.4
Gompertz							
F	275.46 (9.77)	1.953 (0.080)	-	0.0047 (0.0004)	0.7389	1 211.9	5 400.9
M	387.89 (25.75)	2.056 (0.046)	-	0.0033 (0.0003)	0.7731	1 421.4	5 863.3
Intensive system							
Brody's							
F	nc	nc	nc	nc	-	-	-
M	nc	nc	nc	nc	-	-	-
Von Bertalanffy							
F	547.17 (54.56)	0.612 (0.009)	-	0.0026 (0.0003)	0.9002	876.1	2 071.5
M	716.31 (74.68)	0.680 (0.012)	-	0.0028 (0.0003)	0.8883	1 851.2	2 442.6

Table 5. Estimated parameters for each model in the study of the commercial growth curve for both systems and sexes of Marismeña cattle breed.

Model	A (s.e.)	b (s.e.)	m (s.e.)	k (s.e.)	Pseudo-R ²	m.s.e.	AIC
Intensive system							
Verhulst							
F	387.10 (14.78)	7.683 (0.352)	-	0.0071 (0.0004)	0.9021	859.9	2 065.8
M	488.29 (17.94)	11.010 (0.651)	-	0.0083 (0.0005)	0.8932	1 771.0	2 428.3
Logistic							
F	432.53 (23.89)	-	3.471 (0.074)	0.0047 (0.0003)	0.9018	862.9	2 066.9
M	556.01 (31.06)	-	4.084 (0.109)	0.0052 (0.0004)	0.8915	1 798.6	2 433.3
Gompertz							
F	468.92 (32.41)	2.566 (0.054)	-	0.0037 (0.0003)	0.9012	867.5	2 068.5
M	600.58 (41.71)	3.024 (0.083)	-	0.0042 (0.0004)	0.8904	1 816.7	2 436.5

s.e.: standard error; pseudo-R²: non-linear determinative coefficient; m.s.e.: mean square error; AIC: Akaike information coefficient.

nc: No biological coherence of the estimated parameters.

FS: Feral system; IS: Intensive system; F: Female; M: Male.

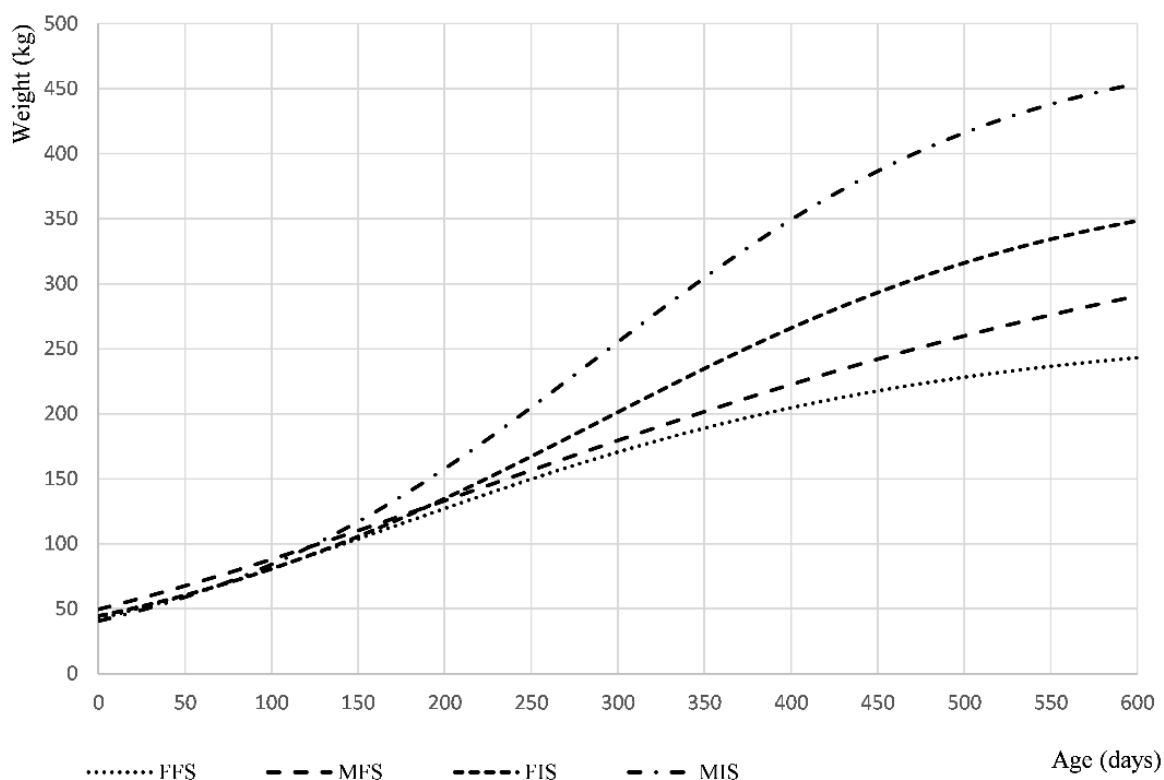


Figure 2. Comparison of commercial growth curves for both systems and sexes of Marismeña cattle, using weights predicted by the best fitting model for each group [FFS: Female under feral system (Logistic model); MFS: Male under feral system (Gompertz model); FIS: Female under intensive system (Verhulst model); MIS: Male under intensive system (Verhulst model)].

In general, according to the criteria to determine the best fitting model, Logistic model was the best for feral females; Gompertz model was the best for feral males; and Verhulst for intensive males and females. Intensive males showed the highest values for (A) parameter (488.29 kg) and while feral females showed the lowest value for the same parameter (264.75 kg). In the same way, the (k) parameter presented clear differences among sex-system groups. Males reared under intensive systems reported the highest values (0.0083) for (k) parameter, while feral males reported the lowest ones (0.0033).

Figure 2 shows the graphic representation of the best fitting commercial growth curves for the different sex-system groups. A progressive differentiation can be appreciated when we observe the behaviour of these curves, starting around the time when animals reach 150 days old, and they are classified by system, and maximizing around the slaughtering age

By using the information offered by the best fitting curve parameters and the algorithms showed in table 1, it was possible to estimate important information such as age and weight at the inflection point and daily gains at a specific moment. The results for each sex-system group are presented in table 6.

Table 6. Inflection weight, inflection age and growth rate (kg/day) at the inflection point for the best fitting models in the study of the commercial growth curve for both systems and sexes of Marismeña cattle breed

Model	Inflection Weight (kg)	Inflection age (days)	Growth rate (kg/days)
FS			
Female			
Verhulst	126.93	201.13	0.47
Logistic	132.37	211.25	0.46
Gompertz	101.34	143.64	0.47
Male			
Verhulst	164.49	268.67	0.48
Logistic	179.26	299.28	0.46
Gompertz	142.70	220.26	0.47
IS			
Female			
Verhulst	193.55	288.69	0.68
Logistic	216.26	322.52	0.64
Gompertz	172.51	254.27	0.64
Male			
Verhulst	244.14	289.01	1.01
Logistic	278.00	324.50	0.92
Gompertz	220.94	263.58	0.93

FS: Feral system; IS: Intensive system.

The weight at the inflection point was influenced by sex and system, reporting a higher value for intensive males. Age at the inflection point was higher for males under feral conditions and was very similar for both

sexes under intensive conditions. Therefore, our results indicate that forced feeding may counteract the effects of sex dimorphism according to the age at which the animals reach the inflection point. Daily gain at the inflection point reports opposite results as it was not affected by sex under feral conditions. Still the results were higher in males when comparing them to those reported for females under intensive conditions, what suggested growth at inflection point was more highly promoted in males than in females under forced feeding intensive conditions.

DISCUSSION

Feral conditions are usually confused with organic extensive production systems. However, feral animals are bred without being provided with any kind of management, as the animals are only collected once a year at a roundup to accomplish the official sanitary regulations (identification, zoonosis tests, and surplus removal). Animals are not provided with any supplemental food or water and no treatment is applied, therefore, they present a complete environmental dependence. Despite implying a seasonal low productivity, these animals are highly regarded as natural and healthy meat producers (Calderón, 2008). Such a reputation should be used to achieve a significant increased value for feral breeds, which usually inhabit the worst grassland territories (Nogales *et al.*, 2017). Studying growth in a cattle breed kept under strict feral conditions faced several compromises when compared to other studies on conventional cattle breeding. Under feral conditions, the serial and cyclic weighting routines over the same animals is not possible, therefore, the use of non-linear models on the weight data collected during the annual official management sessions permitted the characterization of growth trends in a feral breed such as the Marismeña.

Even though the knowledge of best fitting feral biological and commercial growth curves is important on its own, the biological and productive meanings of curve parameters enable an additional application (Perotto *et al.*, 1992) which is essential in livestock production (Fitzhugh, 1976; Menchaca *et al.*, 1996). Although perhaps, the most important application of curve parameters may be their consideration as selection criteria in the breeding programmes of feral breeds, through the use of these tools, farm directors can infer commercial predictions to calculate the productive capacity of the territory or to determine the best age for slaughtering among other utilities, what becomes especially relevant under such feral conditions. In the present study, all the biological functions tested reached convergence with an acceptable Pseudo-R², as common to reports in which important data sets were used for estimations (Lopes *et al.*, 2012). However, Richards' and Brody's models presented the best fitting values in the biological curves. The Richards' model used the greater quantity of parameters and at a higher computational cost, therefore Brody's model was chosen as the best option to explain biological growth in this feral breed, following the

methodology to compare models previously reported by De Behr *et al.* (2001). This parallelism between these models could be explained as Brody's model is a particular event of Richards' model when its specific parameter (m) or level of maturity at the inflection point, takes the value of the unit (Fitzhugh, 1976).

Best fitting of Brody's model is mostly cited in cattle literature (Brown *et al.*, 1976; Goonewardene *et al.*, 1981; Nadarajah *et al.*, 1984; Arango and Van Vleck, 2002), what could rely on the absence of an inflection point on the curve described by this model (Brody, 1945), and be related to the higher maturity level of calves at birth when compared to other species, with the acceleration phase of the curve taking place before birth (Forni *et al.*, 2009b).

(A) parameter represents the asymptotic weight and was approximately 38% higher in males than in females, what indicates an intense sexual dimorphism when we consider this parameter, similar to the adult weights reported by Calderón (2008). These differences in adult weights between genders were higher than those reported for conventional breeds (Fernández *et al.*, 2009) and typical of ancestral breeds over which no artificial selection has been carried out. Our estimated adult weights were lower than the records for conventional breeds. According to Arango and Van Vleck (2002), this may occur because of the adaptation to poor grass land and seasonal food scarcity under such conditions, in which animals with lower size may result more efficient.

Sexual dimorphism was also found in the (k) parameter which represents maturity rate, which could rely on the hormonal differences between both genders which makes females reach puberty earlier (Garnero *et al.*, 2005; Forni *et al.*, 2009b). Although the differences between heifers and steers are not relevant in early stages (Berg and Butterfield, 1976), (k) parameter shows an important negative correlation with the (A) parameter or asymptotic weight, therefore, animals with a higher adult weight present a lower precocity (Moreira *et al.*, 2016).

As expected, commercial growth was remarkably different from biological growth because the collection of information was distorted at 16-20 months when the animal is not adult yet and, therefore, there are not weight data from adults (Forni *et al.*, 2009b). In fact, it was not possible to reach convergence with Richards' model, the best fitting one when biological behaviour is approached. Brody's model reported incoherent curve parameters in males as well. This fact has already been reported in literature (De Behr *et al.*, 2001; Lopes *et al.*, 2012) in which authors mentioned different non-linear models to show best fitting properties in animals with ages under 20 months.

Commercial asymptotic weights, computed through by the (A) parameter, presented high differences when compared to those values found for the biological curve, being lower for both genders, as the value obtained describes an asymptotic value until the animals reach 20 months, and which does not represent an adult weight as it happens in the biological curve. Forni *et al.* (2009b), studied different mathematical

models to describe the growth of the Nelore breed, comparatively reporting underestimated values of adult weights with data from animals with ages ranging from 18 to 24 months of maximum age. However, this is not relevant as the purpose of the commercial curve is the economic aimed prediction at early stages of critical points such as weaning or slaughtering.

Inflection point in the commercial curve has an especial economic meaning because it represents the point where high growth rate becomes slower, affecting the profitability of meat production. This point usually coincides with early puberty when the animal starts to use its energy for its reproductive function in competence with growth, a decisive point for production decision-making. Weight at the inflection point is also illustrative considering the weight reached at maximum growth rate. Our findings suggested a strong variation on age, weight and growth rate at the inflection point, among the different sex-system groups, as the best fitting curves varied in these groups as well. Growth between birth and slaughtering was very heterogeneous when males and females reared under feral and intensive conditions were compared. The hormonal profile considering sex and forced feeding significantly affected meat production under feral conditions. Weight at the inflection point increased in the systems with a greater energy supply, but still differences among genders were detected. Animals reared under the conventional system presented a higher age at the inflection point at 60 days which may be attributed to the reduction in the quality and quantity of the pasture available at certain moments and to a climatic stress-linked puberty anticipation occurring under feral conditions. This is supported by the differences found for this parameter between genders under feral conditions. However, under intensive systems, males and females showed similar ages at the inflection point.

CONCLUSIONS

The original design in the present paper relies on a genetically homogeneous experimental base comparatively located under complete feral conditions and conventional feedlots, what has permitted to develop an exceptional comparison between natural and forced growth, simultaneously considering their interactions with the sexual physiology. Therefore, Marismeña breed can be used to infer a model to reach important conclusions in regards the nature of growth in cattle. The models used in this study are suitable to describe the biological growth of the feral Marismeña breed, with Brody's model standing out as the best fitting model because of its fitting properties and simplicity when compared to Richards' model. However, the models chosen differed when the commercial growth was studied. In that case, the previous methods were discarded and the use of Verhulst, Logistic and Gompertz models was encouraged. In both cases, an important sexual dimorphism was reported. As a practical conclusion of our research, we must point out the fact that feral animals showed the best growth rates until 7 and 10 months of age for females

and males, respectively, while under intensive conditions, human management increased this best growth rate until 11 months in both sexes. This has important implications for management and commercial decisions. These data represent the age at which the animals reach the maximum growth rate, and so that the maximum profit is expected. Obviously, these data are only indicative, as the economic efficiency also depends on external factors such as market demands, feed costs, weather conditions, farm practices, among other factors. We have shed light on the growth of the Marismeña feral cattle breed. These results can be useful for breeding management, delimitating the appropriate moment to discard animals or move them to a fattening station or slaughterhouse. In addition, this information can be used in an eventual genetic evaluation for reproducers in a breeding program for feral resources, in which the best genotypes represent the sires and dams that better adapted to that feral environment, thus improving the performances of the animals without any alteration in the system. The study of the biological curve in a feral breed is very illustrative because the extreme relation of these animals with their environment and its cyclic and seasonal variations through the year, and also the variations between years. Therefore, differences among individual curves must rely on the existing genetic diversity among individuals. In this way, the deeper the studies approaching the effects of additional environmental factors (such as season, year, mother's age, among others) are, the more necessary it is to complete the knowledge on the behaviour of the growth of cattle reared under feral conditions

CAPÍTULO II

CARCASS AND MEAT QUALITY OF A FERAL CATTLE BREED AND ITS RELATION TO POSSIBLE CANDIDATE GENES

Sergio Nogales, Maria Cristina Bressan, Vincenzo Landi, Juan Vicente Delgado, Luis Telo Da Gama and María Esperanza Camacho.

- En evaluación -

ABSTRACT

There is a growing concern about meat products and their quality, both in terms of the nutritional quality and sustainable production associated with the environment. Quality labels have been developed and are related to different products, and many of them are linked with local breeds. Marismeña cattle are raised in feral conditions within the Doñana National Park (Southwest Spain). We aimed to study Marismeña carcass and meat quality, the lipid profile and some single nucleotide polymorphisms (SNPs) mentioned in the literature. A total of 30 animals were studied in the feral system (10 males and 20 females) and 24 in the intensive system (12 males and 12 females). Feral animal carcasses showed lower weights and poor yields when compared with the intensive system and in selected meat breeds. However, differences in meat quality were focused on decreasing IMF and improving the healthy lipid profile for the feral system. Relationships of the CAPN and CAST genes were found with the fatness score and Warner–Bratzler shear force, respectively. Additionally, relationships of POMC with cooking loss and carcass extra cuts also occurred. Relationships of LEP and SCD were established with some fatty acids and from certain studies. Our results support the differentiation of Marismeña meat and allow the further study of SNPs as a starting point for their inclusion in the breeding programme.

KEYWORDS: Beef quality, Management system, Marismeña breed, SNPs

INTRODUCTION

The consumption of red meat has changed in consumer perception in the last decades due to its association with cardiovascular diseases and colon cancer (McAfee *et al.*, 2010) and from the governmental and individual interest in environmental protection and animal welfare (Miranda-de la Lama *et al.*, 2013; García-Torres *et al.*, 2016).

The Marismeña cattle breed is a special matter because it could be considered a maximum exponent of sustainable organic beef production in Europe as one of the few cattle breeds reared in strict feral conditions on the continent. These animals have bred in these conditions for several centuries in the Doñana National Park (Southwest Spain) (Calderón, 2008). This breed is related to the colonization of cattle in the American continent because of their close location with the Southwest Spanish ports, which were a point of origin of principal routes to the Spanish colonies in America. Relationships between Marismeña and American Creole breeds have been genetically confirmed by Martínez *et al.* (2012).

Human management of these animals is almost non-existent and only includes obligatory sanitary checks and population size control to maintain the number of animals permitted within the rules of the National Park. Some of the calves that have been removed are directly slaughtered as feral, but others are fattened in conventional feedlots. This management system presents important effects for meat and carcass quality (Cañeque and Sañudo, 2000) produced by the sum of small factors, such as exercise, climate, quantity and type of feeding, over carcass growth and development, the meat's physical and chemical parameters and the fatty acid profile (Vestergaard *et al.*, 2000a; Priolo *et al.*, 2001; Muchenje *et al.*, 2009; Daley *et al.*, 2010; Scollan *et al.*, 2014); thus, the feral and conventional meat and carcass quality could be compared over the same genetic base, and a base of knowledge could be prepared to support the establishment of a protected trade mark for products of this breed.

However, the conventional breeding based on the recording of growth, carcass and meat is impossible for the management of this breed, and thus the use of genetic markers related to the mentioned traits could be an excellent alternative (Dunner *et al.*, 2013). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are single base variations in the genome, which sometimes are related to regions or genes responsible for phenotype variations (Williams *et al.*, 2009). As these relations are breed specific, the study of these markers in the Marismeña breed opens the door of a marker and/or gene-assisted selection to improve meat production with no alteration of traditional production.

Therefore, the main objective of this study was to infer that the carcass and meat beef quality was produced in completely natural conditions (feral) when compared with conventional feedlot production over the same genetic base. At the same time, the effect of some candidate genes over phenotypic meat and carcass characteristics has been studied in the Marismeña breed with an effort to use them in the breeding programme.

MATERIALS AND METHODS

Animal sampling and rearing systems

A total of 54 Marismeña calves reared in feral conditions and belonging to the same generation were collected during the spring months in Doñana National Park. The animals had a mean age of 147.31 ± 34.27 days and a mean weight of 130.62 ± 45.64 kg. The calves were randomly separated into two groups; the first, which was called the “feral system” (FS), was integrated by 10 females and 20 males and reintroduced in the natural habitat of Doñana National Park; the second, which was called the “Intensive System” (IS), was formed by 12 females and 12 males and was removed and located in a commercial feedlot under conventional fattening management.

The FS group was exclusively fed with natural pastures that were available in the National Park without any supplementation. According to Lazo and Soriguer (1993), the most consumed species by these animals are *Anthoxanthum ovatum*, *Vulpium branaceum*, *Chaetopogon fasciculatus*, *Anthemis cotufa*, *Tolpis barbata*, *Ornithopus pinnatifidus*, *Cynodon dactylon*, *Panicum repens*, *Juncus ritimius*, *Eleocharis palustris* and *Cressa cretica*. The IS group was fed with a concentrate composed of 39.8% corn, 17.8% barley, 12.1% soybean meal, 6.6% DDGS, 6.4% wheat bran, 6% gluten feed, 3% soybean hulls, 2.7% sorghum, and 5.4% vitamins and minerals. It was administered twice a day, and the amounts were fitted to the animal live weight with a mean of 7.5 kg of concentrate per day at the final fattening period. Fibre in the form of alfalfa hay was dispensed *ad libitum* during all of the experiments.

Slaughter, carcass data and sample collection

Animals of both groups were slaughtered in the same commercial slaughter room with a mean age of 552.40 ± 34.65 days and a mean live weight of 329.86 ± 99.32 kg. The carcasses were longitudinally separated in two halves along the vertebral column. Carcass conformation and the level of fattening were determined according to the EUROP classification and the scale of Piedrafita *et al.* (2003). Hot carcass total weight in respect to the live weight at slaughtering was used to calculate the dressing percentage. After slaughtering, the carcasses were aged over 14 days in freezing conditions at 2 °C.

After ageing, the muscle colour and pH were registered between the 12th and 13th ribs in the transversal section of the Longissimus dorsi muscle (LD). Measurement of pH was conducted with a portable pH meter Ph25) (Crison Instruments, S.A., Barcelona, Spain). The colour was determined using a CM-700d spectrophotometer (Konica Minolta Holdings, Inc., Tokio, Japan) and the L*, a* and b* parameters were collected according to the CIE system (CIE, 1978). Chroma and Hue were calculated as $\sqrt{a^2 + b^2}$ and $\arctg(b^* / a^*)$, respectively. Over the left half of the carcass, the following four traits were registered with

a measuring tape: carcass length, internal depth of breast, hind-limb length, and the perimeter of the leg. Then, the left half of the carcass was dissected into edible meat in different commercial cuts (Cañeque and Sañudo, 2000) by obtaining bone, muscle, extra cut (loin and sirloin) and leg cut (muscles derived from the pelvic limb) percentages in respect to the half carcass weight.

Meat laboratory analysis

Meat samples from each carcass were collected from the LD muscle at the end of the ageing period. The samples were individually packaged, identified, fast-frozen, and stored at -20 °C until required for further analysis, at which time they were placed at 4 °C for thawing. The water holding capacity was measured according to the Grau and Hamm (1953) method and modified by Sierra (1973). Cooking losses were determined by cooking the samples until they reached an internal temperature of 70 °C and calculating the percentage by differences between the beginning and the final weight of the process. The cooked samples were divided into pieces of 1 square centimetre in a parallel sense and with respect to the muscular fibre direction. They were then submitted to a Warner–Bratzler shear force (WBSF) analysis by means of a Warner-Bratzler cell with a sheet of 1,016 mm and assessed with a texturometer XT2 (Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK). The centesimal composition was evaluated in fresh meat according to AOAC (2005) protocols and by quantifying crude protein through the micro Kjeldahl method; intramuscular fat by Soxhlet extraction using petroleum ether; moisture by drying until reaching a constant weight; and ash by incineration in muffle furnace at 550 °C. Detailed information regarding extraction and analysis of fatty acid profiles and their detailed results could be found in previous research (Nogales *et al.*, 2017).

DNA extraction

DNA samples were extracted from 500 mg of frozen tissue by classical saline extraction (Miller *et al.*, 1988). Briefly, the tissue was lysed overnight in a buffer containing Tris/EDTA/SDS and proteinase K. After complete lysis, the proteins were removed with a 2 M final concentration of ammonium acetate precipitation, and the DNA was then recovered by isopropanol (67%) precipitation. The DNA was tested in an agarose gel, diluted in TE buffer and standardized at 50 ng/μl.

Genotyping

The used SNPs were first retrieved in the literature to associate with 1) muscle growth - uncoupling protein 2 (*UCP2*) and proopiomelanocortin (*POMC*); 2) meat tenderness - calpain (*CAPN1*, 3 markers), calpastatin (*CAST*, 2 markers) and lysyloxidase (*LOX*); 3) marbling - diacylglycerol O-acyltransferase (*DGAT1*), leptin (*LEP*),

thyroglobulin (*TG*) and retinoic acid receptor-related orphan receptor C (*RORC*); 4) meat colour - RAR-related orphan receptor alpha (*RORA*); and 5) juiciness - Cytochrome P450 (*CYP1A1*); 6) fat metabolism – peroxisome proliferator activated receptor γ (*PPARG*), peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator 1 alpha (*PPARGC1A*), cofilin 1 (*CFL1*) and stearoyl-CoA desaturase (*SCD*) (Williams *et al.*, 2009; Sevane *et al.*, 2011; Dunner *et al.*, 2013; Sevane *et al.*, 2013; Sevane *et al.*, 2014a).

To validate the markers, a small sample of 10 random individuals was amplified using the primer in table 1 and sequenced using the Bigdye v 3 Kit following manufacturer's recommendation. The obtained sequence was confronted with GenBank and alienated using MEGA software (version 7) to confirm the SNP position and polymorphism (Kumar *et al.*, 2016). Endpoint genotyping using the KASP assay (LGC Genomics) was utilized according to the manufacturer's protocols in a LightCycler 480 (Roche, Branford, CT). Briefly, the assay mix consists of a final volume of 10 μ l containing 1 \times KASP Reaction Mix (LGC Genomics, Hoddesdon, UK), 0.14 μ l Assay mix, and 10–20 ng genomic DNA. The following PCR conditions were used: 15 min at 94 $^{\circ}$ C; 10 touchdown cycles of 20 s at 94 $^{\circ}$ C, 60 s at 63–55 $^{\circ}$ C (dropping 0.8 $^{\circ}$ C per cycle), 30 cycles of 20 s at 94 $^{\circ}$ C and 60 s at 55 $^{\circ}$ C. Fluorescence detection of the reactions was performed using a built-in scanner, and the data were analysed using the LightCycler 480 software (Roche, Branford, CT). Raw data were edited and prepared using the ClusterCall Software (LGC Genomics).

Table 1 shows the SNPs information. The basic frequency, Hardy Weinberg equilibrium, and expected and observed heterozygosity were conducted using Plink software (Purcell *et al.*, 2007).

Statistical analysis

Carcass and meat traits were statistically analysed with the SAS v. 9.0 software and utilizing the following linear model:

$$Y_{ijkl} = \mu + MS_i + S_j + bE_k + \varepsilon_{ijkl}$$

where Y_{ijk} represents the different traits, μ is the population mean, MS_i is the fixed effect of the management system (i : Feral to intensive), S_j is the fixed effect of the sex (j : Male to female), bE_k is the linear and quadratic covariation with the age and ε_{ijk} is the residual error. Interactions were tested, but they were not significant and were removed from the model.

SNPs with MAF <0.05 were excluded from further analysis. To test the effects of each SNP genotype over the phenotypes of carcass and meat traits and the fatty acid profiles, the previous linear model was modified by adding the genotyped SNPs as an additional fixed effect. These models were resolved through the GLM Procedure of the SAS package v. 9.0., and the statement “contrast” was used to test additive or dominance effects.

Table 1. Locus symbol, accession number, primer information and genetic diversity parameters of the markers studied in the Marismeña cattle breed.

Locus symbol	GenBank accession	Forward multiplex primers (5'-->3')	He	Ho	minor allele	MAF	HWE	PIC
CAPN1 g.4558 G<A	AF248054	GTAGAAAGCCCTCCCTGTGTC	0,49	0,52	A	0,41	0,779	0,366
CAPN1 g.5709 G<C	AF252504	GCGAGGTGGAGTGGACAGGAG	0,39	0,26	C	0,26	0,028	0,310
CAPN1 g.6545 C<T	AF248054	GCAGGGAAAGGGACAGAT	0,47	0,48	C	0,37	1	0,358
CAST GC	ss77832278	CAGGCCAGATTTAACCATTTT	0,49	0,24	G	0,41	0,000	0,367
CAST g.2959 G<A	AF159246	CATTTGGAAAACGATGCCTCAC	0,00	0,00	C	-	-	0,000
CFL1	ss77831721	GACATGAAAAGTGCCTAAGTCGT	0,47	0,54	T	0,37	0,372	0,356
CYP1A1	ss77832034	TCAAAGCCCCAGAGAGGTAA	0,42	0,48	T	0,30	0,340	0,330
DGAT1 g.6829 A<G	AY065621	AAGGCCAAGGCTGGTGAG	0,40	0,41	A	0,28	1	0,321
LEP	ss77832159	GATTCGCCGCACCTCTC	0,19	0,21	T	0,10	1	0,169
LOX g.7548 C<T	NW_001495344	GCTTGAGTCTGGCTGCTATG	0,29	0,22	C	0,17	0,133	0,246
POMC g.437del1	J00021	AGCAGCCGCTGACTGAGAAC	0,17	0,19	T	0,09	1	0,156
PPARG	ss62850198	TFACTGTGGCCTCTGTTTAC	0,48	0,52	C	0,39	0,581	0,362
PPARGC1A g.19 C<T	AY547554	ACTATGAGTCAGGCCACTGC	0,07	0,07	T	0,04	1	0,069
RORA	ss65549854	GCAAAGCATGAGACAAAGAAG	0,07	0,00	A	0,04	0,000	0,071
RORC g.3290 T<G	DQ667048	CATAAATTACCCTTGACCCTTACAACAAC	0,00	0,00	T	-	-	0,000
SCD g.10329 T<C	AY241932	CTGGCTGGTGAATAGTGCTG	0,37	0,38	C	0,25	1	0,302
TG g.1696 C<T	M35823	GGGGATGACTACGAGTATGACTG	0,00	0,00	C	-	-	0,000
UCP2 g.812 G<A	XM_614452	GCTGGCATCGGGAGTCCG	0,50	0,50	A	0,49	1	0,375

He, expected heterozygosity; Ho, observed homozygosity; MAF, minor allele frequency; PIC, polymorphism information contents; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium

RESULTS

Meat and carcass study

Table 2 summarizes all of the obtained results with respect to the carcass quality. In general, the linear model demonstrated the efficiency with important R^2 values and only the internal depth of the breast showed scarce efficiency (<20%). Covariation with age was not significant in all of the traits, with the exception of the perimeter of the leg. The results show significant differences between the slaughter weights between feral and intensive systems. Feral carcasses resulted in commercial parameters (weight and dressing percentages) that were significantly lower than intensive ones. As expected, the slaughter and hot carcass weights, dressing, conformation score and fatness score were significantly larger in intensive carcasses. Muscle percentages were similar between systems, whereas bone and leg cuts were larger in feral carcasses, and there were extra cuts in intensive carcasses. Carcass measurements indicated a larger carcass size from the intensive animals in lengths as well as in perimeters. The sex effect was not relevant in four traits, but in the other traits, the females showed generally lower values, and larger values were only shown in female extra and leg cuts.

The results related to the meat quality traits are presented in Table 3. Age covariation was also not relevant here, and only some traits related to meat colour were affected by age. In these types of variables, the efficiency of the linear model was lower, which demonstrated the existence of important sources of variation that were uncontrolled by the model, as only moisture and fat content presented coefficients of determination over 70%. Ultimately, the pH and colour variables showed significant differences between systems, with the exception of the L^* parameter. Feral carcasses showed higher values of pH at the end of the ageing period and lower values of a^* and b^* colour parameters. These differences were translated to the Chroma and Hue records. Regarding the other variables, significant differences in the centesimal composition of meat were detected. Intensive carcasses had higher proportions of fat and protein but lower levels of moisture. Sex did not influence most of the studied meat traits. Slight differences were observed for the a^* colour parameter and cooking loss. In centesimal composition, females showed a higher amount of intramuscular fat and a lower percentage of moisture. Information regarding the results of the lipid profile can be found in previous research (Nogales *et al.*, 2017).

Table 2. Carcass quality traits of females and males from a feral and intensive system of Marismaña beef cattle.

	System			Sex		Significance level			R2	RSD
	Feral (n=30)	Intensive (n=24)	Female (n=22)	Male (n=32)	System	Sex	Age			
Slaughter weight (kg)	253.34	414.05	302.77	364.62	0.000	0.000	0.492	0.67	57.89	
Hot carcass weight (kg)	129.23	232.22	157.39	204.06	0.000	0.000	0.494	0.72	33.80	
Dressing (%)	51.10	55.79	51.71	55.17	0.000	0.000	0.969	0.57	0.02	
Conformation score (SEUROP)	4.74	6.28	4.87	6.15	0.000	0.000	0.615	0.54	0.88	
Fatness score	5.28	7.93	6.61	6.60	0.000	0.978	0.419	0.59	1.11	
Muscle (%)	69.17	69.51	68.02	70.66	0.577	0.000	0.086	0.37	1.97	
Bone (%)	26.36	20.00	23.31	23.05	0.000	0.605	0.176	0.77	1.74	
Extra cuts (%)	14.63	17.07	17.10	15.66	0.000	0.000	0.298	0.50	1.10	
Leg cuts (%)	31.59	28.32	30.71	29.20	0.000	0.000	0.796	0.77	0.97	
Carcass length (cm)	119.47	129.74	122.74	126.48	0.000	0.063	0.672	0.39	7.11	
Internal depth of breast (cm)	39.83	42.31	40.81	41.33	0.004	0.509	0.983	0.17	2.79	
Hind-limb length (cm)	70.19	77.22	72.07	75.34	0.000	0.006	0.628	0.51	3.84	
Perimeter of leg (cm)	82.36	102.04	86.05	98.35	0.000	0.000	0.038	0.64	7.90	

Table 3. Meat quality traits of females and males from a feral and intensive system of Marismeña beef cattle.

	System				Sex					Significance level				
	Feral (n=30)	Intensive (n=24)	Female (n=22)	Male (n=32)	System	Sex	Age	R2	RSD	System	Sex	Age	R2	RSD
pH ultimate	5.77	5.55	5.68	5.64	0.000	0.399	0.313	0.30	0.16					
L*	32.60	33.94	32.70	33.84	0.168	0.207	0.037	0.10	3.19					
a*	12.81	14.55	14.21	13.15	0.002	0.037	0.399	0.26	1.78					
b*	3.44	5.38	4.76	4.06	0.001	0.163	0.007	0.28	1.80					
Chroma	13.31	15.60	15.05	13.86	0.001	0.049	0.172	0.28	2.13					
Hue	14.59	19.74	17.99	16.34	0.003	0.285	0.003	0.25	5.48					
Water holding capacity	33.10	32.05	32.07	33.08	0.356	0.336	0.972	0.04	3.75					
Cooking loss	29.46	29.74	28.04	31.16	0.851	0.030	0.057	0.18	5.01					
WBSF	5.69	5.80	5.59	5.91	0.830	0.503	0.446	0.03	1.63					
Moisture	75.83	72.59	73.71	74.71	0.000	0.004	0.231	0.71	1.12					
Ash	1.00	1.00	1.00	1.00	0.891	0.956	0.352	0.02	0.07					
Fat	1.30	3.49	3.00	1.79	0.000	0.000	0.306	0.75	0.79					
Protein	21.82	22.58	21.98	22.41	0.008	0.096	0.207	0.15	0.87					

Candidate genes study

Table 1 presents all of the SNPs and candidate genes studied and the descriptive results are centred in those markers that showed a significant association with studied traits. Among the 18 studied markers, only five showed some association ($P < 0.01$) with meat and carcass quality traits and the fatty acid profile. Table 4 summarizes the main results obtained for those markers in the Marismeña breed. CC homozygotes of the *CAPN1* g.5709 G<C marker presented an association with a higher fatness score, and both additive and dominant effects were significant in this marker. A significant additive effect over the WBSF was found for the *CAST* GC marker, which showed the CC homozygotes at almost two kg greater than the other homozygote. A genetic effect over the fatty acid 20:3 n-6 content was found in the genotypes of the *LEP* marker, which showed the AA homozygotes at double the amount in respect to the heterozygotes (no frequency of TT homozygotes was found). With respect to the *POMC* marker, no TT homozygotes were found, but the heterozygotes of this marker resulted in an association with a larger expression in the cooking loss with respect to the AA homozygotes. This marker also shows a significant association with the proportion of extra cut phenotypes, and presents the AA homozygotes as a larger expression. Finally, the *SCD* marker presented a significant additive effect over the sum of the n-6 fatty acid group, which was probably due to a clear association with the 18:6 n-6. In both cases, the TT homozygotes showed the larger expression.

Table 4. Genotype, frequency and effect of some SNP markers on carcass and meat quality traits and the fatty acid profile of Marisemeña cattle breed.

Genetic marker	Alleles (1-2)	Associated trait	P-value	Genotype means and frequency (n)						Contrast of genetic effects			
				1,1	1,2	2,2	1,1	1,2	2,2	Additive	Dominance		
CAPN1 g.5709 G<C	G-C	Fatness score	0.0041	6.39 ^b ±	6.50 ^b ±	8.20 ^a ±	0.13 (7)	0.21	0.48 (26)	0.48	0.39 (21)	0.0013	0.0227
				0.24	0.21	0.48	0.13 (7)	0.21	0.48 (26)	0.48	0.39 (21)	0.0013	0.0227
CAST GC	G-C	WBSF	0.0031	4.89 ^b ±	5.39 ^b ±	6.62 ^a ±	0.29 (15)	0.39	0.24 (12)	0.38	0.47 (24)	0.0007	0.4230
				0.27	0.39	0.38	0.29 (15)	0.39	0.24 (12)	0.38	0.47 (24)	0.0007	0.4230
LEP	A-T	20:3 n-6	0.0059	0.08 ±	0.04 ±	-	0.79 (42)	0.01	0.21 (11)	-	-	-	-
				0.01	0.01	-	0.79 (42)	0.01	0.21 (11)	-	-	-	-
POMC g.437del1	C-T	Cooking loss	0.0084	28.40 ±	33.29 ±	-	0.81 (43)	1.56	0.19 (10)	-	-	-	-
				0.81	1.56	-	0.81 (43)	1.56	0.19 (10)	-	-	-	-
SCD g.10329 T<C	C-T	18:2 n-6	0.0023	5.91 ^c ±	7.34 ^b ±	10.72 ^a	0.05 (3)	0.49	0.38 (21)	15.62 ^a	0.56 (31)	0.0012	0.2632
				0.45	0.49	15.62 ^a	0.05 (3)	0.49	0.38 (21)	15.62 ^a	0.56 (31)	0.0012	0.2632
T<C	Σ n-6	Σ n-6	0.0055	8.95 ^b ±	10.64 ^b ±	15.62 ^a	0.66	0.73	0.66	15.62 ^a	1.95	0.0021	0.2027
				0.66	0.73	15.62 ^a	0.66	0.73	0.66	15.62 ^a	1.95	0.0021	0.2027

Means in the same row with different superscripts are statistically different (p < 0.05)

DISCUSSION

Feral systems could be confused with extensive management, but they really are very different. Over hundreds of years, the Marismeña breed has been submitted to natural selection without any human intervention, and therefore, they are completely adapted to feral conditions. The number of animals in the National Park is limited, and some surplus calves are removed and placed in conventional intensive fattening stations. There are numerous studies comparing the extensive production with intensive management in regards to the productive behaviour of beef cattle. However, the characteristics of the meat and carcasses of feral breeds maintained in complete natural conditions have been assessed in this paper for the first time. Extensive systems are based on pasture feeding, but usually these pastures are improved and fertilized; moreover, sometimes feeding is supplemented if necessary. Animals from these systems are continuously managed in regards to reproduction, animal health, technology, etc. Despite this protocol, the feral system uses completely natural production without any management and only obligatory sanitary checks to prevent plagues, which are conducted once per year. Thus, this was a unique opportunity to test the effect of human management over the quality of the cattle carcass and the meat. Furthermore, because we compared the most extreme systems over the same genetic base, feral animals were compared with animals of the same breed and generation in intensive conditions.

Statistical models used in the present study were generally efficient in presenting a high determinative coefficient, and this indicates that an important source of variation was explained by the model. Age as a covariable, even though it was not significant, contributed to correct the slight differences among slaughter ages and contributed to the effectiveness of the model.

As expected, the carcass characteristics were severely affected by human management. Animal growth and body development in the intensive system were more efficient in comparison to the feral animals. They showed a higher mean weight at slaughter due to a larger daily gain in intensive conditions. This fact is justified by greater energetic disposability in the diet (Lawrie, 1998). These significant superiorities of the intensive carcasses also affected the hot carcass weight and the morphological measurements, and all of these factors were extremely related to the slaughter weight, which was always lower in the feral animals. Taking into account the study of Albertí *et al.* (2008) that compared the extensive and intensive systems of the meat and carcasses of 15 European beef breeds, the difference between extensive (not feral) and intensive systems were very significant for these characteristics.

In our context and in the feral system, the average weight at slaughter was clearly lower. This was even true for the intensive calves that reached similar weights to dairy breeds, such as Jersey cattle, which are slaughtered younger (Albertí *et al.*, 2008). Feral animals presented a lower dressing percentage, which is related to lower slaughter weights (Refsgaard Andersen, 1975) as a lower SEUROP classification and

fattening score, and all of these factors were related to the energetic content of the diet, feed availability and exercise (Piedrafita *et al.*, 2003). The feral carcass fatness score and conformation values were the lowest registered in the literature with respect to other European breeds and specifically the Spanish ones (Albertí *et al.*, 1999; Piedrafita *et al.*, 2003). Despite this result, Humada *et al.* (2012) found lower values in animals of the Tudanca breed, but the ages at slaughter were younger (12 to 14 months). Nevertheless, the morphological measurements on the carcasses did not differ from the data reported in other Spanish breeds (Albertí *et al.*, 2008). These data support that this breed is a medium size population in the cattle species but without any artificial selection over the meat production Muscle percentages were very similar in both systems compared to those referenced in the literature, whereas both systems presented a large bone percentage with respect to other Spanish cattle breeds (Albertí *et al.*, 1999), which was probably due to the minimum fat deposition in the feral carcasses. Sexual dimorphism was evident in both systems and showed males with increased size, weight and conformation (Steen and Kilpatrick, 1995; Venkata Reddy *et al.*, 2015).

In regards to the meat characteristics, the statistical models were generally efficient but less than in the carcass characteristics. Similarly, age was not significant, but its introduction in the model contributed to correct the differences among the slaughter ages. The effect of human management over the pH ultimately was significant, and even all of the dates were under a normal range of the species. Feral meat presented a higher pH value than the intensive conditions, which may be due to the lower muscle reserves of glycogen in the muscle obtained in this system. This can be explained by a higher depletion of glycogen before slaughter due to a major stress level in feral animals that are not accustomed to human management (Muir *et al.*, 1998; Priolo *et al.*, 2001; Muchenje *et al.*, 2009). The parameters related to the meat colour showed a diverse behaviour. While parameter L* was not affected by the system, the a*, b*, Chroma and Hue angle parameters were always superior in the intensive meat. Therefore, meat from the intensive system had higher levels of redness and yellowness, which was different from the majority of studies comparing intensive and extensive systems. Such differences can be justified by a higher level of physical exercise in the feral system, as mentioned by Vestergaard *et al.* (2000a). The water holding capacity, cooking loss and WBSF were not affected by human management, which was probably due to a strong individual variability and genetic determination with respect to other meat traits, as noted by Del Campo *et al.* (2008) and Realini *et al.* (2004). As in other traits, the values of the muscle centesimal composition were consistent with those values shown by other local Mediterranean breeds, and distinctive in all of them was a lower percentage of IMF with respect other international breeds (Indurain *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2012; Brugiapaglia *et al.*, 2014). Nonetheless, as supported in our study, feral meat showed a significantly lower IMF percentage and higher moisture content with respect to the intensive meat, which was probably due to the nutritional and

exercise differences between both management systems; these two factors are mentioned the most in the literature as affecting these traits (Lawrie, 1998; Wood *et al.*, 2008).

Association of SNPs with studied traits

According to our results, we can confirm that it is possible to obtain good carcasses and good quality meat from a strict grassland-based system such as feral conditions, which coincides with French *et al.* (2001). This combined with the excellent reputation of this natural meat could be used as a source of richness in areas of conservation where feral animals are integrated. In such cases, it is necessary to implement breeding measurements to obtain genetic progress without modifying the idiosyncrasy of the natural system. We implemented a search of the associations of meat and carcass quality traits with some candidate genes assessed with SNPs, and the results are presented in the following paragraphs

CAPN1 and CAST genes

Calpains are enzymes related to *postmortem* muscle protein proteolysis and are activated by Ca^{2+} , whereas calpastatin is a competitive inhibitor of these proteases. In this study, two polymorphic markers, one from each gene, have shown variability in the effect of their genotypes over the carcass and meat quality traits in this breed. Concretely, we found association ($p < 0.01$) between the genotypes of *CAPN1* g.5709 G<C and the fatness score and between *CAST* and WBSF. In regards to the first association, no previous references have been found; however, Sevane *et al.* (2014a) found a significant effect of *CAST* g.2959 G<A over the fatness score, which could indirectly justify our findings due to the relationship between these enzymes and the implications of calpain over the differentiation of adipocytes and free fatty acids. This could support the explanation of our findings in the Marismeña breed and the association found by Cheong *et al.* (2008) between the genotypes of *CAPN1* and the marbling score, which is a trait related to fat deposition. The effect of this marker's genotypes was additive, and genotype CC showed a 30% higher fatness score than the other genotypes. The association between *CAST* GC and WBSF has been previously refereed (Barendse, 2002; Schenkel *et al.*, 2006). This marker showed a significant additive effect of its C allele over the meat tenderness. The WBSF difference between homozygotes was 1.73 kg, which indicates that this marker could be of great interest as selection criteria for the Marismeña breed.

LEP gene

Leptin is a hormone mainly synthesized in the adipocytes acting over body homeostasis, fat deposition, feed intake, immune function and reproduction (Chilliard *et al.*, 2005). Several authors have studied associations between SNPs located in the *LEP* gene with meat quality and production traits (Nkrumah *et al.*, 2004; Tian *et al.*, 2013) such as the intramuscular fat and the fatty acid profile (Orrù *et al.*, 2011). We found an association ($p < 0.01$) in the Marismeña breed involving the *LEP* SNP used in this study and the

percentage of fatty acid 20:3 n-6 related to the whole fatty acid composition in the LD muscle. Although some authors found associations between the LEP gene markers and individual fatty acids (Orrù *et al.*, 2011; Papaleo Mazzucco *et al.*, 2016) none was particularly found with the mentioned fatty acid (PUFA) for the associations reported by these authors with the SFA and MUFA groups and the SFA desaturation index. Homozygotes AA showed twice the expression of the heterozygotes AT; this fact together with the absence of TT genotypes may suggest some relation with adaptation because this disequilibrium could be caused by natural selection. If it is confirmed, this marker could have a starring role in the breeding of this breed in feral conditions.

POMC gene

Proopiomelanocortin (POMC) is a pro-hormone peptide involved in the diminution of appetite due to the related increase of the alpha melanocyte stimulating hormone (Marsh *et al.*, 1999; Seong and Kong, 2015). SNPs in the *POMC* gene have been previously studied as markers associated with growth and carcass yield (Buchanan *et al.*, 2013) as well as meat quality, particularly with marbling score, cooking loss and meat tenderness (Gill *et al.*, 2010; Sevane *et al.*, 2014a). Our results studying this SNP seem to be in concordance with the mentioned references, mainly the association of its genotypes over the cooking loss but also in regards to the effect in the percentage of extra cuts that was found. In both cases, the absence of TT homozygotes and the expressions found do not permit us to reach any concrete conclusion.

SCD gene

Stearoyl-CoA desaturase is an enzyme responsible for the conversion of SFA in MUFA by a double bond introduction between the 9 and 10 carbons of the fatty acid chain (Ntambi, 1999). Some authors found associations between the fatty acid profile and SNP markers located in the *SCD* gene (Matsushashi *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2012). The *SCD* genotypes can severely affect the expressions of the SFA and MUFA groups and the desaturase indexes calculated according to the percentage of fatty acids affected by this desaturase (Orrù *et al.*, 2011; Baeza *et al.*, 2013). Nevertheless, in our work, there appears to be a strong additive effect of the marker over linoleic acid (18:2 n-6) and therefore over the PUFA n-6 group. Few authors have revealed any effect of the *SCD* gene over individual PUFAs, but Li *et al.* (2012) and Matsushashi *et al.* (2011) found some epistatic effect with other implied genes over the PUFAs lipid metabolism, and so the implication of other genes in our results is possible. However, Sevane *et al.* (2013) found a similar effect of the T allele reported here in regards to the increase of the linoleic acid percentage, and this was related to the C allele effect over the increase of oleic acid (18:1 cis9) (Taniguchi *et al.*, 2004).

CONCLUSION

Our findings revealed an important effect of human management over cattle meat and carcass characteristics by comparing the individuals of the same genetic group and generation and reared under strict natural conditions (feral system) and calves reared in a conventional intensive fattening station. In general, intensive carcasses showed better yields than the feral ones, but feral meat did not show important differences regarding meat quality traits.

This is the first time that feral meat and carcasses have been studied. Most of the studied traits have shown values within the typical range of the species, which demonstrates that commercial production is possible under a natural pasture-based system such as feral conditions. It also proposes that feral breeds, which are always endangered, are a source of richness in marginal areas where these animals are appreciated for different quality together with the healthy reputation of these products due to their organic and sustainable production. The meat quality parameters were not extremely affected by human management, but traits, such as pH, meat colour parameters, intramuscular fat and moisture, should be monitored when this meat is commercialized.

To improve the commercial value of feral products, a breeding programme is needed, but the massive recording of phenotypic traits in feral breeds is not possible; thus, a programme based on Marker Assisted Selection could be suitable. In this respect, five SNP markers have shown a significantly different effect of their genotypes over some relevant traits, such as the fatty acid profile, the fatness score, the WBSF, the cooking loss and the extra cuts proportion. Although these associations must be studied thoroughly in the future, we were able to discover potential markers, and it would also be interesting to explore different ones.

FATTY ACID PROFILE OF FERAL CATTLE MEAT

Sergio Nogales, Maria Cristina Bressan, Juan Vicente Delgado, Luis Telo da Gama, Cecilio Barba, María Esperanza Camacho. 2017. Fatty acid profile of feral cattle meat. Italian Journal of Animal Science, 16:1, 172-184. ISSN 1594-4077. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/1828051X.2016.1263163>.

ABSTRACT

Marismeña is a feral Spanish cattle breed reared in the Doñana National Park, whose meat quality is traditionally appreciated in the area of influence. We assessed male (n=32) and female (n=22) Marismeña calves raised in their natural habitat (n=30) vs. feedlot conditions (n=24) to test differences in the lipid profiles of the m. *longissimus thoracis*. Meat from the feral system displayed ($p < 0.05$) lower intramuscular fat (IMF) (0.93%), higher saturated fatty acids (SFA) (18:0) proportion, and lower monounsaturated fatty acids (MUFA) proportion compared with feedlot meat. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) percentage was higher for feral meat compared with feedlot meat, especially the proportion of PUFA n-3, which was about 8.5 times greater. The PUFA/SFA (0.37) and PUFA n-6/n-3 (2.87) ratios showed that feral meat was presumably healthier, from a human dietary perspective, than feedlot meat (0.21 and 13.42, respectively). This study used a direct comparison of natural feral meat and conventional feedlot meat in cattle, and the results demonstrated a clear influence of natural production on the constituents of meat.

KEYWORDS: Marismeña breed; wild life; Doñana National Park; intramuscular fat quality; feeding system.

INTRODUCTION

Marismeña is a breed of cattle raised under feral conditions in the National Park of Doñana, which is a natural reserve located in southern Spain. Almost 95% of the individuals belonging to the breed live there, in an area comprising about 100 000 ha. The breed has a long historical tradition, with references to it dating back to the 13th century (Calderón, 2008), but the present census of 2204 animals indicates that the Marismeña is an endangered breed. Marismeña cattle raised in Doñana Park are fed exclusively on natural pastures with almost no human interference, such that they are only herded together for official health check controls and for animal identification once a year (Lazo, 1995). Natural mating takes place in the wild, and Marismeña calves are born under feral conditions, receiving maternal milk until they are naturally

weaned. Occasionally, some young animals are bought by external meat managers, and fattened using a conventional feedlot system.

In recent years, increased awareness about the effect of ingestion of saturated fats in diet and its effect on human health has promoted a negative perception by consumers towards some animal products, such as beef (Daley *et al.*, 2010). This is thought to be a consequence of the low levels of PUFA and high levels of some hypercholesterolemic SFA in beef, which raises total and low-density lipoprotein (LDL) cholesterol after ingestion (Scollan *et al.*, 2006). However, the lipid profiles of cattle show variability, depending upon factors such as diet, breed, sex, and age (Scollan *et al.*, 2014; Sevane *et al.*, 2014b). In general, meat produced by animals under extensive conditions is leaner, with the IMF being rich in PUFA n-3, conjugated linoleic acid (CLA), and t11-18:1 fatty acids (FAs), which are related to the maintenance of health (Daley *et al.*, 2010). The differences among breeds seem to be linked/associated to differences in the genome and expression of proteins, which intervene in the quantity and kinds of fat deposition (Shingfield *et al.*, 2013).

Meat and meat products originating from different types of production systems are receiving increased scrutiny by consumers, especially when they are produced under circumstances that are perceived to be associated with animal welfare. The special conditions under which Marismeña cattle are produced may represent an important added value, thus contributing towards the conservation of the breed. In these terms, this study was conducted to characterize lipid profiles of male and female Marismeña cattle, reared in the wild (feral system; FS) or in captivity under conventional intensive conditions (IS).

MATERIAL AND METHODS

Sampling was adapted to take into account the special circumstances of this feral breed management, and recognizing the fact that 95% of the animals belonging to the breed live in the National Park of Doñana in feral conditions. This area is mostly marshland for the greater part of the year, and animal management is performed only from midsummer until the end of the summer. At this time, all the animals are herded together for sanitary checks and for the identification of newborn calves.

Animal sampling and rearing systems

For this study, 54 Marismeña calves, born and raised under feral conditions in Doñana National Park during the spring and with an estimated age of 147.31 ± 34.27 days and a mean live weight of 130.62 ± 45.64 kg, were random and proportionally chosen from the total number of male and female calves caught during the management season in the summer. These animals were assumed to be representative of the whole population raised in the Park, and were separated into two groups: the first group comprised 30 animals (10 females and 20 uncastrated males) which were marked and reintroduced into FS, and another group

of 24 animals (12 females and 12 uncastrated males) which were moved to a nearby experimental feedlot where they were raised intensively (IS) with grain supplementation, during 14 months. Sampling was proportional to the total number of females and males caught in the season, which is unbalanced because more females are kept for replacement than males.

Animals raised in the Park under feral conditions had continuous access to native pastures, being *Anthoxanthum ovatum*, *Vulpia membranacea*, *Chaetopogon fasciculatus*, *Anthemis cotufa*, *Tolpis barbata*, *Ornithopus sativus*, *Cynodon dactylon*, *Panicum repens*, *Juncus maritimus*, *Eleocharis palustris* and *Cressa cretica* the most abundant and consumed species in the pasture (Lazo and Soriguer, 1993). The IS group of animals received, in addition to alfalfa hay supplied ad libitum, a concentrate supplement composed of 39.8% corn, 17.8% barley, 12.1% soybean meal, 6.6% DDGS, 6.4% wheat bran, 6% gluten feed, 3% soybean hulls, 2.7% sorghum, and 5.4% vitamins and minerals. The amount of feed supplied was adjusted with live weight, such that, over the finishing period considered, animals received an average of 7.5 kg of concentrate per day, administered twice daily. The chemical composition and fatty acid profile of the finishing diet used in the feedlot are presented in table 1.

Table 1. Chemical composition of concentrate supplied in intensive system and fatty acid profile (in % of total fatty acids) of finishing diet (concentrate and alfalfa hay).

Chemical composition (%)	Concentrate	
Crude protein	15	
Crude ash	6.3	
Cellulose	5.5	
Crude fat	4.2	
Ca	0.7	
P	0.4	
Mg	0.2	
Fatty acid profile (%)	Concentrate	Alfalfa hay
14:0	0.72	4.29
16:0	17.95	19.31
18:0	2.54	1.99
18:1 c-9	18.99	3.03
18:2 n-6	40.76	13.85
18:3 n-3	2.32	21.19

Sample collection

Given the absence of systematic management, experimental animals were very heterogeneous. They were slaughtered at an age of 552.40 ± 34.65 days, at a live weight of 329.86 ± 99.32 kg, in a slaughter plant, following EU regulations on the protection of animals during transport and related operations, and at the time of killing. Meat samples from each carcass were collected from the m. *longissimus thoracis* between the fifth and seventh rib, at 24 h post mortem. Samples were individually packaged, identified, fast-frozen,

and stored at -20 °C until required for further analysis, at which time they were placed at 4 °C for thawing. The samples were trimmed to remove visible adipose and connective tissues, and minced in a commercial mixer/blender until total homogenization of the sample was achieved.

Laboratory analysis

Chemical analyses were carried out following AOAC recommendations (AOAC, 2005) to determine the proximate composition of meat, including moisture and IMF. To determine IMF, duplicate samples of fresh meat were boiled with a 4 N HCl solution and subsequently washed and filtered to obtain a residue on which a Soxhlet extraction was performed using petroleum ether as solvent. In all cases, the results were expressed in percentage of the meat sample. For the analyses of FAs, total lipids were extracted from 0.5 g of freeze-dried sample, using chloroform/methanol (2/1; v/v) as described by Folch *et al.* (1957). The preparation of FA methyl esters (FAMES) was carried out as described by Raes *et al.* (2001), using NaOH/MeOH and HCl/MeOH. The FAMES were submitted to gas-liquid chromatography (GLC) on an Agilent HP 6890 chromatograph (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA) equipped with a flame ionization detector, using a split injector ratio of 1:10 and a 100 m capillary column (100 m × 0.25 mm internal diameter × 0.20 µm film thickness; CP-Sil 88; Varian Inc., Walnut Creek, CA, USA). The temperature and other chromatograph settings were as follows: initial column temperature of 100 °C for 1 min, which was increased to 150 °C at 1 °C/min and maintained for 20 min; increased by 1 °C/min up to 190 °C and maintained for 5 min; and finally, increased by 1 °C/min up to 200 °C and maintained for 35 min. The temperature was kept at 250 °C for the injector and 280 °C for the detector. Helium was the carrier gas, at a constant pressure of 32.78 psi. FAs were identified by comparison of retention times with those of a FAME standard mix (Supelco37 standard FAME Mix, Supelco Inc., Bellefonte, PA), and quantification was obtained by normalization. The FA composition was expressed both as a proportion of total FA identified and as mg/100 g of fresh muscle

Data processing and statistical analysis

Statistical analyses were carried out by analysis of variance (ANOVA) of chemical composition variables, FA composition, and groups and ratios of FAs, using the General Lineal Model procedure of the SAS software version 9.0 (SAS, 2002). In all cases, the animal was considered to be the experimental unit, and two-way ANOVA was performed, including the fixed effects of sex and management system, together with their interaction. In addition, age at slaughter was included as a covariate, to account for the differences between individuals resulting from their random selection from the herds. Regression functions of MUFA, PUFA, and SFA with respect to IMF were obtained using the REG procedure of SAS software.

RESULTS

IMF and moisture content

The means and results obtained using the two-way ANOVA analysis for IMF and moisture content are presented in table 2.

Table 2. IMF and moisture content (g/100 g of fresh muscle) in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level			Age	RSD
	Feral	Intensive	Male	Female	System	Sex	Interaction		
Moisture	75.94	72.63	74.82	73.75	***	**	*	ns	1.117
IMF	1.22	3.46	1.72	2.96	***	***	**	ns	0.801

IMF = Intramuscular fat. * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.0001. RSD: Residual standard deviation.

Statistically significant differences were found for both factors: management system and sex. The R² was high (>0.70), demonstrating high efficiency for the model. Overall, the contents of the two meats differed substantially, with the FS meat having a lower IMF, and a higher moisture content than the IS meat. In addition, meat from males showed a lower IMF and a higher moisture content, compared with that from females.

Table 3. SFA composition (% of total identified fatty acids) in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level			Age	RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.		
14:0	1.83	1.85	1.61	2.07	ns	**	ns	ns	0.614
15:0	0.59	0.25	0.44	0.40	***	ns	ns	ns	0.147
15:0 iso	0.23	0.08	0.15	0.15	***	ns	ns	ns	0.069
15:0 anteiso	0.28	0.10	0.20	0.18	***	ns	ns	ns	0.079
16:0	22.48	23.06	21.77	23.77	ns	**	*	ns	1.924
17:0	1.21	0.81	1.02	1.00	***	ns	ns	ns	0.179
17:0 iso	0.51	0.27	0.41	0.36	***	ns	ns	ns	0.099
17:0 anteiso	0.44	0.43	0.44	0.44	ns	ns	ns	*	0.269
18:0	20.47	15.49	18.52	17.45	***	ns	*	ns	2.577
20:0	0.21	0.11	0.16	0.17	***	ns	ns	*	0.064
21:0	0.07	0.04	0.06	0.05	**	ns	ns	ns	0.032
22:0	0.43	0.26	0.40	0.29	ns	ns	ns	ns	0.346
SFA	48.98	42.8	45.34	46.51	***	ns	**	ns	3.859

SFA = 14:0 + 15:0 + 15:0 iso + 15:0 anteiso + 16:0 + 17:0 + 17:0 iso + 17:0 anteiso + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0. ns = p > 0.05, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.0001. Intes.: Intensive. Inter.: interaction. RSD: Residual standard deviation.

Saturated fatty acids

Compared with IS meat, FS meat had approximately 6% higher proportion of SFA ($p < 0.01$) (table 3). All individual SFA were affected by the production system ($p < 0.05$), except for the proportions of 14:0, 16:0, 17:0 anteiso, and 22:0. In particular, FS had 5% higher proportions of 18:0. Although the SFA means were similar between the sexes, meat from females had higher relative values of 14:0 and 16:0 than meat from males.

Table 4. Fatty acid composition (mg/100 g of fresh muscle) in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level				RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.	Age	
14:0	25.95	63.31	29.03	60.24	***	***	ns	ns	18.551
15:0	7.74	8.08	6.12	9.70	ns	**	ns	ns	3.165
15:0 iso	3.14	2.43	2.02	3.55	ns	***	*	ns	1.255
15:0 anteiso	3.84	3.25	2.86	4.23	ns	**	*	ns	1.611
16:0	283.19	804.86	383.23	704.83	***	***	*	ns	188.391
17:0	15.64	27.23	15.65	27.22	***	***	ns	ns	6.720
17:0 iso	6.43	8.98	5.95	9.46	**	***	ns	ns	2.472
17:0 anteiso	5.19	14.85	8.27	11.77	***	ns	ns	**	6.659
18:0	254.32	528.77	308.15	474.94	***	***	ns	ns	133.575
20:0	2.89	3.86	2.63	4.11	*	**	ns	ns	1.405
21:0	0.87	1.15	0.81	1.22	ns	*	ns	ns	0.647
22:0	3.93	8.96	5.79	7.09	**	ns	ns	ns	5.218
14:1 c-9	2.64	9.50	4.67	7.47	***	*	ns	ns	4.422
16:1 c-7	4.04	6.14	3.82	6.37	**	***	ns	ns	1.719
16:1 c-9	22.23	107.84	41.17	88.90	***	***	**	ns	26.950
16:1 t-9	1.38	1.28	1.12	1.54	ns	*	ns	ns	0.657
17:1 c-9	7.47	21.78	10.05	19.20	***	***	**	ns	5.621
18:1 c-9	316.70	1363.11	568.05	1111.77	***	***	**	ns	298.120
18:1 c-11	9.67	87.44	30.89	66.23	***	**	***	ns	29.531
18:1 c-12	10.14	18.41	11.61	16.94	**	ns	ns	ns	9.389
18:1 c-13	1.82	12.68	4.35	10.15	***	***	***	*	3.742
18:1 c-15	1.79	4.24	1.77	4.26	***	***	ns	**	1.408
18:1 t-6, t-7, t-8	1.40	5.38	2.83	3.94	***	ns	ns	*	2.271
18:1 t-9	1.91	7.43	3.59	5.75	***	**	ns	*	2.379
18:1 t-10	7.44	20.79	8.57	19.66	**	**	ns	ns	12.376
18:1 t-11	18.91	35.91	19.94	34.89	**	**	ns	*	15.355
18:1 t-12	3.24	8.10	4.58	6.76	**	ns	ns	ns	4.270
20:1 c-11	0.49	5.44	2.39	3.54	***	ns	*	**	2.743
18:2 c-9, t-11	4.57	13.57	6.58	11.56	***	**	*	*	4.769
18:2 n-6	88.18	166.84	127.27	127.75	***	ns	ns	ns	28.648

Table 4. Fatty acid composition (mg/100 g of fresh muscle) in m. *longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level				RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.	Age	
18:3 n-6	1.45	1.64	1.23	1.86	ns	*	ns	**	0.874
20:2 n-6	1.14	1.72	1.38	1.48	**	ns	*	ns	0.546
20:3 n-6	1.34	1.32	1.08	1.58	ns	**	ns	ns	0.590
20:4 n-6	33.85	47.10	38.00	42.95	**	ns	ns	ns	10.657
22:4 n-6	1.27	6.33	3.08	4.53	***	**	**	***	1.291
22:5 n-6	1.70	2.21	1.75	2.15	ns	ns	ns	**	1.388
18:3 n-3	23.28	9.94	14.89	18.34	***	ns	ns	ns	6.199
20:5 n-3 (EPA)	12.76	1.92	6.96	7.72	***	ns	ns	ns	3.159
22:5 n-3 (DPA)	16.96	6.85	11.04	12.78	***	ns	*	ns	3.409
22:6 n-3 (DHA)	1.39	0.72	1.00	1.11	**	ns	ns	ns	0.637
SFA	615.62	1479.74	772.57	1322.79	***	***	*	ns	342.229
MUFA cis	373.09	1621.29	676.88	1317.50	***	***	**	ns	363.014
MUFA trans	29.39	72.37	37.32	64.44	***	**	ns	*	24.057
MUFA	406.10	1705.20	720.09	1391.22	***	***	**	ns	387.136
PUFA n-6	135.64	236.34	179.27	192.70	***	ns	ns	ns	39.289
PUFA n-3	54.41	19.31	33.84	39.87	***	*	ns	ns	9.811
PUFA	194.19	269.25	219.63	243.81	***	ns	ns	ns	47.479

SFA = 14:0 + 15:0 + 15:0 iso + 15:0 anteiso + 16:0 + 17:0 + 17:0 iso + 17:0 anteiso + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0. MUFA cis = 14:1 c-9 + 16:1 c-7 + 16:1 c-9 + 17:1 c-9 + 18:1 c-9 + 18:1 c-11 + 18:1 c-12 + 18:1 c-13 + 18:1 c-15 + 20:1 c-11. MUFA trans = 16:1 t-9 + 18:1 t-6, t-7, t-8 + 18:1 t-9 + 18:1 t-10 + 18:1 t-11 + 18:1 t-12. MUFA = 14:1 c-9 + 16:1 c-7 + 16:1 c-9 + 17:1 c-9 + 18:1 c-9 + -18:1 c-11 + -18:1 c-12 + -18:1 c-13 + 18:1 c-15 + 20:1 c-11 + 16:1 t-9 + 18:1 t-6, t-7, t-8 + 18:1 t-9 + 18:1 t-10 + 18:1 t-11 + 18:1 t-12. PUFA n-6 = (18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6). PUFA n-3 = (18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). PUFA = (18:2 c-9, t-11 + 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6 + 18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). ns = p > 0.05, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.0001. Intes.: Intensive. Inter.: interaction. RSD: Residual standard deviation.

When the comparison was based on the amount of SFA (Table 4), it was nearly twice higher in females than in males and in animals finished intensively than in the feral group. These differences were mostly a consequence of increased levels of 16:0 and 18:0 in females and in the group finished intensively.

Monounsaturated fatty acids

More than half of the identified MUFA were affected by the production system (Table 5), such that IS meat had higher proportions of total MUFA and cis-MUFA (nearly 1.4 times more than FS), and higher mean proportions of 18:1 c-9, 16:1 c-9, 20:1 c-11, 18:1 c-13, 18:1 c-11, and 18:1 t-9. In contrast, FS meat had higher relative values of 16:1 c-7, 16:1 t-9, and 18:1 t-11 (1.5 times higher). Higher proportions of MUFA and cis-MUFA were also found in females, due to the larger percentages of 18:1 c-15, 18:1 c-13, 16:1 c-9, and 18:1 c-9 in their meat. No differences were observed for proportion of trans-MUFA between sexes.

When the comparison is based on the amount of FA (Table 4), animals in IS had nearly 4 times more total MUFA than those in FS, and females had twice the amount found in male. This was mostly due to increased amounts of 18:1 c-9 and 16:1 c-9 in IS and in females, while for the rest of MUFA the differences were smaller.

Table 5. MUFA composition (% of total identified fatty acids) in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level				RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.	Age	
14:1 c-9	0.24	0.28	0.27	0.25	ns	ns	ns	ns	0.158
16:1 c-7	0.30	0.19	0.25	0.24	***	ns	ns	ns	0.067
16:1 c-9	1.68	3.07	2.12	2.63	***	**	ns	*	0.533
16:1 t-9	0.12	0.04	0.09	0.06	***	ns	ns	ns	0.057
17:1 c-9	0.59	0.63	0.61	0.61	ns	ns	*	*	0.188
18:1 c-9	26.02	38.52	29.56	34.98	***	***	ns	ns	2.833
18:1 c-11	0.97	2.23	1.63	1.57	***	ns	*	ns	0.942
18:1 c-12	0.74	0.59	0.72	0.61	ns	ns	ns	ns	0.520
18:1 c-13	0.17	0.35	0.22	0.30	***	*	ns	ns	0.133
18:1 c-15	0.13	0.11	0.10	0.15	ns	**	ns	**	0.043
18:1 t-6, t-7, t-8 ¹	0.12	0.15	0.14	0.13	ns	ns	ns	ns	0.064
18:1 t-9	0.17	0.21	0.19	0.19	*	ns	ns	ns	0.054
18:1 t-10	0.51	0.58	0.52	0.57	ns	ns	ns	ns	0.436
18:1 t-11	1.52	1.00	1.17	1.34	*	ns	ns	ns	0.636
18:1 t-12	0.24	0.25	0.27	0.22	ns	ns	ns	ns	0.155
20:1 c-11	0.08	0.15	0.11	0.11	**	ns	ns	***	0.060
MUFA cis	30.88	45.75	35.50	41.13	***	***	ns	ns	2.892
MUFA trans	2.39	2.04	2.15	2.28	ns	ns	ns	ns	0.644
MUFA	33.62	48.11	37.98	43.74	***	***	ns	ns	3.188

¹ Total percentage of 18:1 t6, t7, and t8 isomers. MUFA cis = 14:1 c-9 + 16:1 c-7 + 16:1 c-9 + 17:1 c-9 + 18:1 c-9 + 18:1 c-11 + 18:1 c-12 + 18:1 c-13 + 18:1 c-15 + 20:1 c-11. MUFA trans = 16:1 t-9 + 18:1 t-6, t-7, t-8 + 18:1 t-9 + 18:1 t-10 + 18:1 t-11 + 18:1 t-12. MUFA = 14:1 c-9 + 16:1 c-7 + 16:1 c-9 + 17:1 c-9 + 18:1 c-9 + 18:1 c-11 + 18:1 c-12 + 18:1 c-13 + 18:1 c-15 + 20:1 c-11 + 16:1 t-9 + 18:1 t-6, t-7, t-8 + 18:1 t-9 + 18:1 t-10 + 18:1 t-11 + 18:1 t-12. ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.0001$. Intens.: Intensive. Inter.: interaction. RSD: Residual standard deviation.

Polyunsaturated fatty acids

The proportion of total PUFA was higher for FS animals, being almost twice that observed in IS animals (Table 6). The Relative value of PUFA n-6 was 1.5 times greater and PUFA n-3 was 8.5 times greater in FS than in IS meat. Overall, all individual proportions of PUFA were affected by the production system ($p < 0.05$), with the exception of 18:2 c-9, t-11, and 22:5 n-6. The 18:3 n-6, 20:5 n-3 (EPA), 22:5 n-3, and 22:6 n-3 (DHA) had proportions which were 6 times higher and 18:2 n-6 was 50% higher in FS than in IS. Males showed greater proportions of PUFA, PUFA n-6, and PUFA n-3 than females.

When the amount of FA in meat was considered (Table 4), the total PUFA, n-6 and n-3 differed between finishing systems, with IS having higher means for total PUFA and n-6 and lower means for n-3. However, the various individual PUFA differed when compared among finishing systems, such that 18:2 n-6, 20:2 n-6, 20:4 n-6 and 22:4 n-6 were higher ($P < 0.05$) in IS when compared with FS, and the opposite pattern was observed for 18:3 n-3, 20:5 n-3, 22:5 n-3 and 20:6 n-3. Only total n-3 differed between sexes, with higher means in females ($P < 0.05$), but differences in individual FA were minor.

Table 6. PUFA composition (% of total identified fatty acids) in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level				RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.	Age	
18:2 c-9, t-11	0.40	0.38	0.37	0.41	ns	ns	ns	*	0.118
18:2 n-6	7.82	5.55	8.63	4.74	**	***	ns	ns	2.487
18:3 n-6	0.12	0.05	0.10	0.07	**	ns	ns	ns	0.069
20:2 n-6	0.11	0.05	0.11	0.05	**	**	*	ns	0.052
20:3 n-6	0.11	0.04	0.08	0.07	***	ns	ns	ns	0.041
20:4 n-6	3.05	1.55	2.86	1.73	**	**	ns	ns	1.256
22:4 n-6	0.12	0.20	0.17	0.14	**	ns	ns	***	0.069
22:5 n-6	0.12	0.08	0.12	0.08	ns	ns	ns	*	0.085
18:3 n-3	2.02	0.30	1.46	0.87	***	**	**	ns	0.755
20:5 n-3 (EPA)	1.15	0.06	0.76	0.45	***	*	*	ns	0.445
22:5 n-3 (DPA)	1.56	0.20	1.10	0.66	***	**	**	ns	0.551
22:6 n-3 (DHA)	0.12	0.02	0.09	0.05	***	*	ns	ns	0.053
PUFA n-6	11.93	7.78	12.44	7.27	***	**	ns	ns	3.604
PUFA n-3	4.86	0.57	3.41	2.03	**	***	**	ns	1.572
PUFA	17.16	8.73	16.21	9.68	***	***	*	ns	4.952

PUFA n-6 = (18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6). PUFA n-3 = (18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). PUFA = (18:2 c-9, t-11 + 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6 + 18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). ns = $p > 0.05$, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.0001$. Intens.: Intensive. Inter.: interaction. RSD: Residual standard deviation.

Ratios and indexes

Estimated means for the PUFA/SFA and n-6/n-3 PUFA ratios are shown in Table 7. In the two cases, both the finishing system and sex effects, as well as their interaction, gave significant results. The FS meat had higher PUFA/SFA levels than in IS, whereas the opposite was true for n-6/n-3. Males showed lower PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios than females. Desaturation indexes for 16 and 18 were significantly affected by both system and sex, being greater for IS and females.

Table 7. FAs ratios and indices in *m. longissimus thoracis* of female and male Marisemeña cattle finished under feral or intensive systems.

	System		Sex		Significance level				RSD
	Feral	Intens.	Male	Female	System	Sex	Inter.	Age	
PUFA/SFA	0.37	0.21	0.36	0.21	**	**	*	ns	0.144
n-6/n-3	2.87	13.42	9.73	6.56	***	***	***	*	2.906
DI 16	6.89	11.66	8.72	9.83	***	*	ns	**	1.757
DI 18	55.75	71.24	60.70	66.29	***	***	ns	ns	3.826
EI 16-18	65.79	67.34	66.65	66.48	ns	ns	ns	ns	2.633

PUFA/SFA = (18:2 c-9, t-11+ 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6 + 18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3) / (14:0 + 15:0 + iso-15:0 + 15:0 anteiso + 16:0 + 17:0 + 17:0 iso + 17:0 anteiso + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0). n-6/n-3 = (18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6) / (18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). DI 16, desaturase index = (16:1 c-9 / 16:0)*100. According to Aldai et al. (2006). DI 18, desaturase index = (18:1 c-9 / 18:0)*100. According to Aldai et al. (2006). EI, elongase index = (18:0 + 18:1 c-9) / (16:0 + 16:1 c-9 + 18:0 + 18:1 c-9). According to Pitchford et al. (2002). ns = p > 0.05, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.0001. Intes.: Intensive. Inter.: interaction. RSD: Residual standard deviation.

Significant interactions between system and sex effects

The production system influenced 39 of the 55 studied variables, whereas the effect of sex influenced 24 variables. The variables not affected by production system were: 14:0, 16:0, 17:0 anteiso, 22:0, 14:1 c-9, 17:1 c-9, 18:1 c-12, 18:1 c-15, 18:1 t-6, t-7, t-8, 18:1 t-10, 18:1 t-12, -18:1 c-9, t-11 (CLA), 22:5 n-6, MUFA trans, and elongase (16 to 18).

The interaction of both factors was not important, but it was significant in the following variables: IMF content, moisture content, 16:0, 18:0, 18:1 c-11, 20:2 n-6, 18:3 n-3, 20:5 n-3, 22:5 n-3, SFA, PUFA, PUFA n-3, PUFA/SFA ratio, and n-6/n-3 ratio (Table 8).

Chemical composition of the *m. longissimus thoracis* showed that although both males and females in the FS system gave similar results for moisture and IMF, IS males had lower amounts of IMF and higher amounts of moisture when compared with IS females (4.7 times), while IMF in IS males was almost half that of IS females. Significant interactions were found for SFA and PUFA such that animals raised in FS had higher percentages of SFA (p < 0.05), which were also higher in females than in males, due to the higher proportion of 18:0 in those groups. However, a low percentage of 16:0 was found for FS males compared with other groups. Elevated proportions of PUFA (p < 0.05) were observed in meat from FS males, and these were 2–3 times higher than for the other combinations. This resulted in greater percentages of PUFA n-3 (18:3 n-3; 20:5 n-3, 22:5 n-3) and 20:2 n-6. Compared with males from FS, females showed nearly half the level of PUFA n-3.

Table 8. IMF and moisture content, individuals FAs proportions, summations and indices resulted from the interaction of factors System x Sex in *m. longissimus thoracis* of female and male Marismeña cattle finished under feral or intensive systems.

	Feral		Intensive		Significance level		RSD
	Male	Female	Male	Female	interaction	age	
Moisture	76.15a	75.73a	73.49b	71.77c	*	ns	1.084
Fat	0.93c	1.51c	2.51b	4.41a	**	ns	0.743
16:0	20.87b	24.09a	22.67a	23.45a	*	ns	1.852
18:0	20.23a	20.71a	16.81b	14.18c	*	ns	2.492
18:1 c-11	1.30bc	0.64c	1.95ab	2.51a	*	ns	0.905
20:2 n-6	0.15a	0.07b	0.06b	0.04b	*	ns	0.050
18:3 n-3	2.62a	1.43b	0.29c	0.30c	**	ns	0.705
20:5 n-3	1.47a	0.84b	0.05c	0.06c	*	ns	0.421
22:5 n-3	2.01a	1.11b	0.19c	0.20c	**	ns	0.510
SFA	46.84b	51.13a	43.84c	41.90c	**	ns	3.594
PUFA	22.03a	12.29b	10.39bc	7.07c	*	ns	4.755
PUFA n-3	6.25a	3.47b	0.57c	0.58c	**	ns	1.436
PUFA/SFA	0.49a	0.24b	0.24b	0.17b	*	ns	0.140
n-6/n-3	2.52c	3.22c	16.94a	9.90b	***	*	2.259

SFA = 14:0 + 15:0 + 15:0 iso + 15:0 anteiso + 16:0 + 17:0 + 17:0 iso + 17:0 anteiso + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0. PUFA = (18:2 c-9, t-11 + 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6 + 18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). PUFA n-3 = (18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). PUFA/SFA = (18:2 c-9, t-11+ 18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6 + 18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3) / (14:0 + 15:0 + iso-15:0 + 15:0 anteiso + 16:0 + 17:0 + 17:0 iso + 17:0 anteiso + 18:0 + 20:0 + 21:0 + 22:0). n-6/n-3 = (18:2 n-6 + 18:3 n-6 + 20:2 n-6 + 20:3 n-6 + 20:4 n-6 + 22:4 n-6 + 22:5 n-6) / (18:3 n-3 + 20:5 n-3 + 22:5 n-3 + 22:6 n-3). ns = p > 0.05, * = p < 0.05, ** = p < 0.01, *** = p < 0.0001. Means in the same row with different superscripts are statistically different (p < 0.05). RSD: Residual standard deviation.

Relationship between proportions of fatty acid groups and intramuscular fat content

The correlation between IMF content and total SFA results showed a different behaviour for FS and for IS meats (Fig. 1a). For FS meat there was a significant slope of SFA on IMF, whereas for IS meat the slope was nearly horizontal and the sum of SFA proportions was almost constant, even if the total fat increased. In this case, the behaviour of the slopes was mostly defined by the individual percentages of C16:0 and C18:0.

The behaviour of total MUFA proportions for regression on IMF in the IS and FS systems was distinct (Fig. 1b). This total relationship was mostly made up of a combination of MUFA c-9 or C18:1 c-9 percentage, which were higher in IS animals. Overall, the trends of the curves for total SFA and total MUFA summations were opposing, and showed reciprocity when considering the feeding system.

With respect to PUFA, the curves for proportions of total PUFA, PUFA n-6, and PUFA n-3 showed inverse behaviour (Figs 1c-1e) compared with the SFA and MUFA curves (Figs 1a and 1b). In these cases, when the IMF increased, the total PUFA and PUFA n-6 summations decreased in FS meat, and the same occurred for IS meat, but in a smoother way. The behaviour of PUFA n-3 was similar to that of n-6 for FS meat but not for IS meat, for which the slope of the PUFA n-3 was almost null, independently of the IMF content.

Figure 1a.

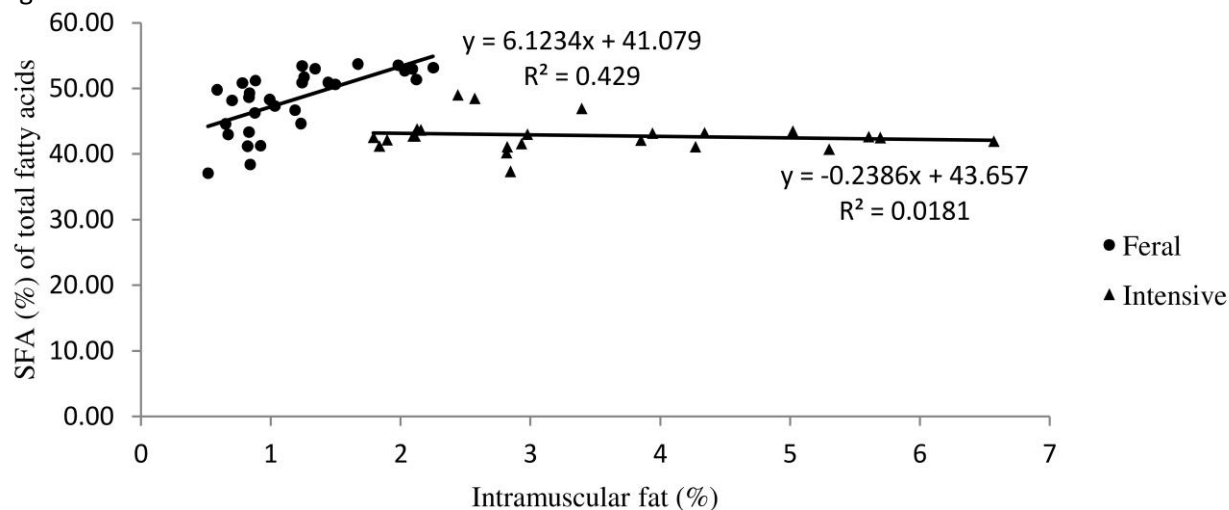


Figure 1b.

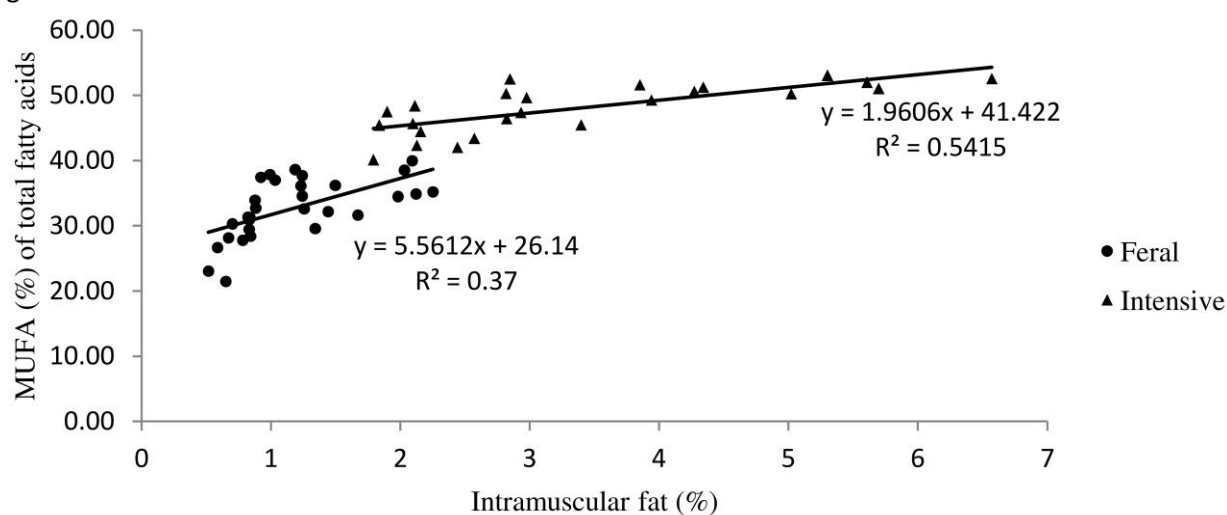


Figure 1c.

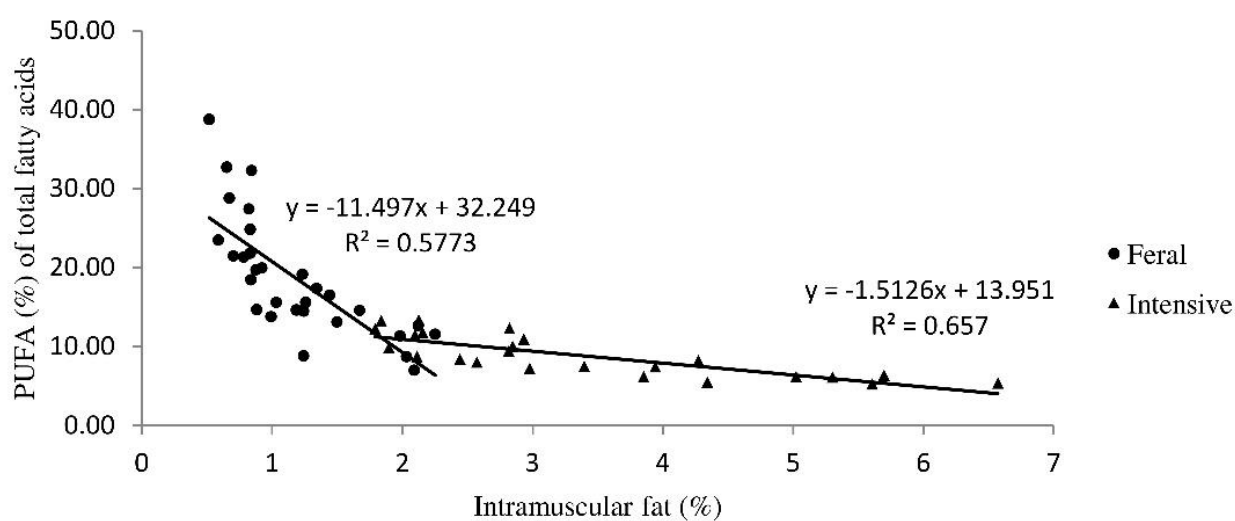


Figure 1d.

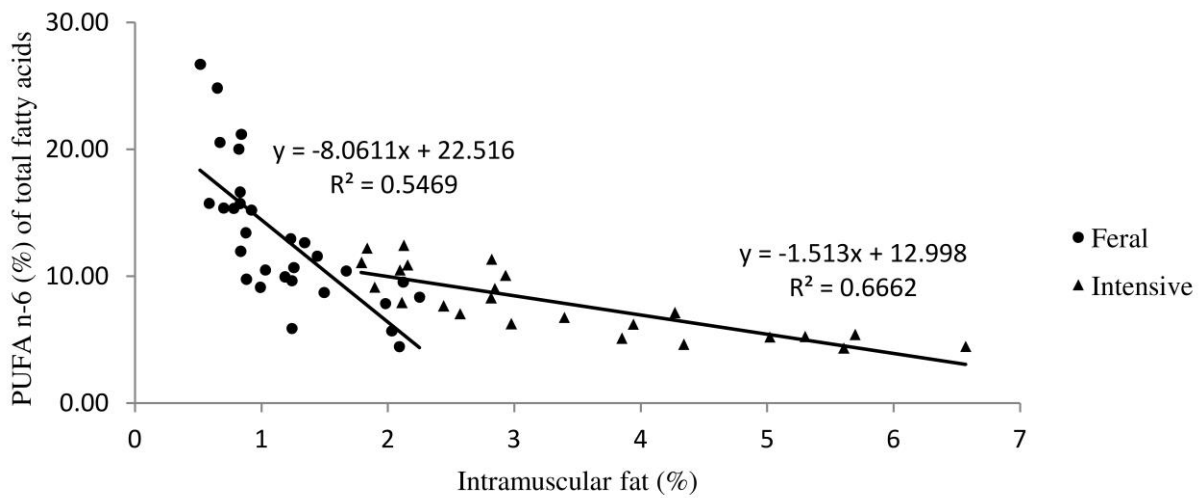


Figure 1d.

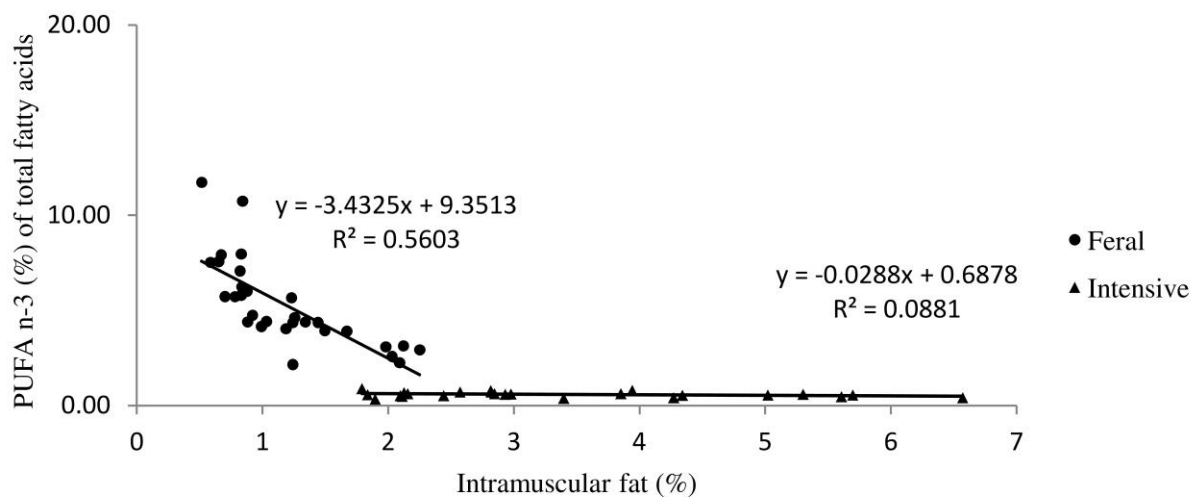


Figure 1. Relationships between intramuscular fat content (IMF) and percentage of a) SFA, b) MUFA, c) PUFA, d) PUFA n-6 and e) PUFA n-3; of the *longissimus thoracis* muscle of Marisemeña cattle finished under feral (●) or intensive (▲) systems.

DISCUSSION

To our knowledge, this is the first time that the lipid composition of beef cattle produced in feral conditions, without any human management, is compared with meat of the same genetic origin produced in conventional feedlot systems, which is a unique opportunity to test these two different scenarios.

Even though our interest was mostly in assessing the lipid profiles of meat produced in both systems, we first analysed their chemical composition, especially in terms of moisture and IMF, in order to test if the total amount of IMF affects the proportional lipid profile of meat. Our results for chemical composition

were similar to values reported for other local Mediterranean breeds from Spain, Italy, and Portugal, but were lower than for non-native selected breeds reared in the same countries (Indurain *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2012; Brugiapaglia *et al.*, 2014). Animals reared under intensive conditions showed a strong tendency towards higher fat content compared with feral animals, due to the higher nutritional value of concentrate feed (Wood *et al.*, 2008). Additionally, despite the fact that females generally tend to deposit more fat than males, in our study differences in IMF were not found between sexes under feral conditions, probably due to the extremely low energy level of grass to which animals had access to. However, our results disagree with those from other researchers such as Daza *et al.* (2014), who found differences between sexes in animals fattened under free-range conditions, with lower values of IMF for uncastrated males. However, free-range conditions are not the same as feral conditions, as the latter are almost completely natural without any human management.

It is well known that fat content of meat has a fundamental effect on its FA composition (Wood *et al.*, 2008). In our study, the relationship between the proportions of different FA groups and total IMF showed a diverse behaviour in the two management systems (Figures 1.a to 1.e). Our findings demonstrate that, when total fat increased, SFA proportion increased significantly in FS and remained nearly constant in IS animals, showing a different behaviour from what has been reported in the literature (Smet *et al.*, 2004). The proportion of MUFA increased with total fat in both FS and IS, but more pronouncedly in FS meat, indicating that an increase in the amount of fat, especially in FS calves, will produce an increase in the proportion of MUFA in their meat. The percentages of total PUFA and n-6 PUFA decreased as IMF increased, especially in FS animals, while the decline was very moderate in IS animals. On the other hand, in IS animals the PUFA n-3 remained nearly constant when IMF increased from 2 to 7%, so that the n-6/n-3 ratio decreased.

In our study, differences among sexes in the proportion of different fatty acids did not appear to be important, but a certain degree of interaction between system and sex was shown in our results.

Overall, meat produced by feral Marismeña cattle and by intensively-finished animals differed substantially in the proportion of the various fatty acids, with FS meat having almost 6% more SFA than IS meat. Our findings do not agree with reports from other authors who assessed extensive vs. intensively-produced meats, where the pattern generally found is that the proportion of SFA in meats produced extensively and semi-extensively is lower than in meats produced intensively (Alfaia *et al.*, 2009; Bressan *et al.*, 2011; Humada *et al.*, 2012). In the present study, only four SFA had relative proportions not showing significant differences between the two finishing systems (14:0, 16:0, 17:0 anteiso, and 22:0). The other SFA proportions were significantly higher in the FS meat, which could indicate that this meat is hypercholesterolemic. However, according to Ulbricht and Southgate (1991), the most harmful SFA are 12:0, 16:0, and 14:0, with the last one being the unhealthiest, showing a hypercholesterolemic power four

times greater than the other two. In the current study, there was no difference in 14:0 proportions between the two types of meat, and the 16:0 percentage was higher in the IS meat. These findings, together with the fact that 18:0 is not hypercholesterolemic (Mensink, 2005; Daley *et al.*, 2010) and given that it was found at higher rates in feral system meat, suggest that, in general, FS meat has a healthier SFA profile.

The general FA profile of meats in our study indicated that IS showed higher MUFA proportions (approximately 30% more), agreeing with the results reported by Daley *et al.* (2010), who found that grain-fed beef consistently produced higher proportions of this FA group. However, Alfaia *et al.* (2009) found similar results between feedlot and pasture grazing. In our study, MUFA differences between systems occurred with cis-MUFA rather than trans-MUFA, such that for the latter no significant differences were found, contradicting the assertion that pasture-based diets result in higher percentages of trans-MUFA (Scollan *et al.*, 2014). This is supported by our results for the individual MUFA percentages, as all 18:1-trans isomers were barely or not at all significantly different between systems, while the proportion of 18:1 c-9 was largely responsible for the differences between finishing systems, because of its prevalence when compared with the other FAs of this group. Our findings do not fully agree with the results reported by Bressan *et al.* (2011), who found proportions of MUFA to be equal or slightly higher with grass feeding, while the differences between the two systems in the relative values of 18:1 c-9 were not significant. However, other reports are in agreement with our findings in Mediterranean local breeds (Costa *et al.*, 2012; Humada *et al.*, 2012), and the results of Warren *et al.* (2008) could suggest a good explanation for this diversity. These authors found that MUFA proportions were higher in young (14 month-old) Aberdeen Angus and Holstein Friesian calves fed on forage compared with calves fed on concentrate, but when the animals were older (18 months old) this pattern changed, with the animals fed on concentrate showing higher proportions of MUFA, and this situation stabilized for both breeds when the animals were 24 months old. The results found in our study were consistent with this pattern, as slaughtering of Marismeña males occurred at around 20 months of age, and the proportion of MUFA was lower in FS than in IS animals. The major proportions of MUFA, mostly oleic acid, in IS may be due to the higher energy content of the diet and to increased stearyl-coenzyme A desaturase activity (Daniel *et al.*, 2004). In our study, this activity was different between sexes, with females showing higher activity, in agreement with the results by Daza *et al.* (2014). From recent studies, it is difficult to judge whether the proportional differences in MUFA found in Marismeña IMF are positive or negative, because it is known that MUFA can reduce LDL and total/HDL ratio when substituting those SFA considered hypercholesterolemic (FAO, 2008) but, on the other hand, studies in species such as primates and mice have shown that MUFA is not better than SFA in protecting against coronary artery atherosclerosis (Baum *et al.*, 2012).

Regarding PUFA, our findings demonstrated important proportional differences between sexes and management systems, with very few interactions between these two factors. There was a general trend

towards higher PUFA percentages in meats originating from males and FS, both for total PUFA, and for PUFA n-3 and PUFA n-6 separately. The PUFA group contains the most important FAs in terms of prevention of several illnesses, as there is evidence that linoleic (18:2 n-6) and alpha-linolenic (18:3 n-6) acids are essential for humans, and that the risk of coronary heart disease is decreased when PUFA replaces SFA (FAO, 2008). The greatest bioactivity is seen for the long chain PUFA n-3, such as eicosapentaenoic acid (EPA) (20:5 n-3), docosapentaenoic acid (DPA) (22:5 n-3), and docosahexaenoic acid (DHA) (22:6 n-3), which have recognized beneficial effects on the prevention of heart attack, depression, and cancer (Daley *et al.*, 2010; McAfee *et al.*, 2010). Alpha-linolenic acid is not as bioactive as the longer chain of n-3 FAs, but it is important because it is the major PUFA that occurs in the green tissues of plants present in grasslands, and in ruminants this FA is the precursor, after elongation and desaturation processes, of some of the most active FAs (Decker and Park, 2010). In our study, the meat of feral Marisemeña cattle had 2–4 times the proportion of PUFA when compared with intensively reared animals. These findings agree with those reported by Bressan *et al.* (2011) in *Bos taurus* and *Bos indicus*, in which animals finished on pasture showed higher proportions of PUFA than intensively reared animals, but the differences between the two systems reported by these authors were much lower than in our study. Costa *et al.* (2012) compared meats from animals from two local Portuguese breeds fed on low-forage and high-forage diets, and found conflicting results; in some cases, the animals on low-forage diets had higher PUFA percentages than those on high-forage diets, but they also found the reverse in other cases. This could be due to the low consumption of fresh grass by all animals, as preserved forage does not have the same positive effects as grass. Humada *et al.* (2012) presented similar results to ours when they compared meats obtained in semi-extensive and intensive systems from a local Spanish breed at two different slaughter ages. However, their results were much more balanced between finishing systems when compared with ours, with the exception of PUFA n-3 proportions, which showed greater differences. In our study, the proportions of individual PUFA were clearly higher in FS meat, with the exception of CLA and 22:5 n-6 (no differences), and 22:4 n-6 (lower content). These findings correlated with a low level of IMF and therefore a high concentration of phospholipids in the case of PUFA n-6, whereas the individual PUFA n-3 were associated with a higher intake of α -linolenic acid from pasture (Humada *et al.*, 2012). In the case of 22:4 n-6, similar results were observed by Nuernberg *et al.* (2005) when comparing grass-based and concentrate feeding systems. In our study, males showed higher percentages of all n-3 and some PUFA n-6 compared with females, mostly due to the lower amount of IMF. There was also a clear differentiation when the interaction between system and sex was assessed, with noticeable sex differences in FS.

Particular mention should be made of CLA, which is a collective term covering several conjugated isomers of linoleic acid, such as rumenic acid (18:2 c-9, t-11) and 18:1 t-10, c-11. This group is associated with prevention of inflammation, cancer, atherosclerosis, obesity, diabetes, and osteoporosis, among other

benefits to human health (Decker and Park, 2010; Dugan *et al.*, 2011). CLA content in animal products (meat and milk) is strongly influenced by the consumption of fresh pasture (Kelly *et al.*, 1998). However, no differences between system or sex were observed for 18:2 c-9, t-11 CLA percentages in our study, although some authors (Daley *et al.*, 2010) have found such differences. We did find slight differences between systems for the proportion of the precursor 18:1 t-11, with FS meat having higher levels.

The goal of our work was to compare the impact of rearing system and sex on the relative importance of different fatty acids in Marismeña cattle, as has often been reported for many other breeds (Daza *et al.*, 2014; Scerra *et al.*, 2014; Bressan *et al.*, 2016). However, it may also be of interest to assess the specific amount of the various fatty acids that are present in 100 g of fresh meat, which reflects the ingestion of fatty acids by consumers, and is highly dependent on the amount of IMF. In our study, IMF was nearly 1.7 higher in IS when compared with FS, such that, largely because of this, meats produced by cattle raised under IS had about 2.4 times more SFA, 4.2 times more MUFA and 1.4 times more PUFA than meats from FS. The pattern for individual fatty acids was mostly similar to the one found for the group that they belong to, but a few particular cases deserve to be mentioned. For example, the amount of CLA in 100 g of meat was nearly 3 times higher in IS, while the total amount of n-3 fatty acids, EPA and DHA were higher in FS by about 2.8, 6.6 and 1.9 times, respectively, when compared with IS.

When meat produced by females was compared with that obtained from males, the level of IMF was nearly 1.7 times higher. Therefore, the pattern found for the amount of the various fatty acids and groups of fatty acids in the two sexes was very much in line with the comparisons described for FS and IS, with higher amounts of the various FA and groups of FA in females, even though the differences between sexes were smaller than those observed when finishing systems were compared.

The various ratios computed among fatty acids and groups of fatty acids were the same, either when calculated from percentages or from the amount of fatty acids. The PUFA/SFA ratio is an important way to evaluate the nutritional value of red meat, and it is recommended that values should be above 0.5 (Scollan *et al.*, 2006) but, with some exceptions, values below 0.1 are typical in beef production (Scollan *et al.*, 2014). In the current study, this ratio was significantly different for meats produced in the two rearing systems, and it was almost twice in FS (0.37) when compared with IS (0.21) meat. Taking into account the results of the interaction, FS males had a ratio of 0.49, very close to the recommended value of >0.50, probably because of their lower IMF (0.93%).

The n-6/n-3 PUFA ratio is particularly important because an appropriate balance in this ratio in cell membranes is related to a significant reduction in the risk of coronary heart disease (Aldai *et al.*, 2006). However, despite the beneficial effects of PUFA n-6, this FA group is related, owing to a major susceptibility to lipid peroxidation, with the inflammatory process, and some studies have also shown that a high n-6/n-

3 ratio increases cancer risk (Lawrence, 2013). In addition, both linoleic acid and alpha-linolenic acid are essential FAs, and are precursors of other compounds by two different methods, but enzymes such as desaturase are involved in both, so an excess of linoleic acid can interfere in the metabolism of alpha-linolenic acid (Daley *et al.*, 2010). In our study, the n-6/n-3 ratio in FS meat was almost five times more balanced than that of IS meat, an important finding. Our results are in line with those of Humada *et al.* (2012), but not with those of Bressan *et al.* (2011), who reported closer results between the two finishing systems. Our results for key individual FAs, such as alpha-linolenic acid, EPA and DHA point towards recommending FS as a way to improve the healthy profile of FA in meat.

Moving on the estimated enzymatic activities studied in the present research, FS meats showed a significantly lower enzymatic activity as regards to the 16 and 18 desaturation indexes. The differences may be related to higher serum insulin concentration in animals fed on grain (Daniel *et al.*, 2004), which supports our findings about the influence of a diet rich in concentrate on the enzymatic desaturation activities affecting the 16:0 and 18:0 isomers. However, interactions between breed type, slaughtering age, and diet on desaturase activity have been previously reported in the literature (Chung *et al.*, 2007).

CONCLUSIONS

The main purpose of the present study was to assess the differences in fatty acid profiles in meat from feral and intensively reared Marismeña cattle. Our results indicate that meats obtained in the two systems differ considerably, but sex also plays an important role. Animals raised under feral conditions produce leaner meat, with a FA profile which is generally better. Even though the global SFA profile did not appear to be healthier for feral meat, the study of individual SFA showed that the largest proportion of SFA in feral meat was composed of 18:0, rather than other FAs that are considered hypercholesterolemic. PUFA are the FAs that have the largest protective bioactivity, and in our study, compared with meat obtained under intensive conditions, the meat from feral animals had far higher percentages of these FAs, particularly the most representative PUFA, such as EPA, DPA and DHA, and their precursor alpha-linolenic acid. The PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios showed a much better balance in meat obtained under feral than in the intensive conditions. Our findings could be used as an indicator of the healthy FA profile of Marismeña meat obtained under feral conditions, which could be used as a way to recognize its unique properties and in support of a certification program yielding a premium price, thus contributing to the conservation of this breed.

CONCLUSIONES

1. Growth curve models used in this study are suitable to describe the biological growth of the feral Marismeña breed, with Brody's model standing out as the best fitting model because of its fitting properties and simplicity when compared to Richards' model.
2. Growth curve models chosen differed when the commercial growth was studied. In that case, the previous methods were discarded and the use of Verhulst, Logistic and Gompertz models was encouraged.
3. Feral animals showed the best growth rates until 7 and 10 months of age for females and males, respectively, while under intensive conditions, human management increased this best growth rate until 11 months in the two sexes. These data are only indicative, as economic efficiency also depends on external factors such as market demands, feed costs, weather conditions, farm practices, among others. These results can be useful for breeding management, delimitating the appropriate moment to discard animals or to move them to a fattening station or slaughterhouse.
4. This is the first study on the quality of feral meat and carcasses. Most of the traits studied have shown values within the typical range for the specie, what demonstrates that commercial production is possible under a strictly natural pasture-based system such as that found in feral conditions.
5. Our results suggest that feral breeds, which are always endangered, are a source of richness in marginal areas where these animals are appreciated for different reasons together with the healthy reputation of their products given their organic and sustainable production
6. Meat quality parameters were not extremely affected by human management, but characteristics, such as pH, meat colour parameters, intramuscular fat and moisture, should be monitored when this meat is commercialized.
7. Animals raised under feral conditions produce leaner meat, with a generally better FA profile. The study of individual SFA showed that the higher proportion of SFA in feral meat was 18:0, rather than other FAs that are considered hypercholesterolemic.

8. Meat from feral animals had higher percentages of PUFA, such as EPA, DPA and DHA, and their precursor the alpha-linolenic acid. The PUFA/SFA and n-6/n-3 ratios showed a much better balance in meat obtained under feral than those in meat from animals reared in intensive conditions.
9. Our findings could be used as an indicator of the healthy FA profile of Marismeña meat obtained under feral conditions, which could be used as a way to recognize its unique properties.
10. A breeding programme is needed to improve the commercial value of feral products, but the massive recording of phenotypic traits in feral breeds is not possible; thus, a programme based on marker/gene assisted selection could be suitable. Although these associations must be thoroughly studied in the future, we were able to detect potential markers.
11. Our results could support a certification program yielding a premium price, thus contributing to the conservation of this breed.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albertí, P. 2000. Medición del color. In: Cañeque, V. & Sañudo, C. (eds.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- Albertí, P. 2012. Influencia de la alimentación con altos niveles de ácidos grasos insaturados en la calidad de la canal y de la carne de terneros sacrificados a dos niveles de acabado. *Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos*. Universidad de Zaragoza, Zaragoza.
- Albertí, P., Lahoz, F., Sañudo, C. & Olleta, J. L. 1999. Producción y rendimiento de distintas razas españolas. *Informaciones Técnicas. Departamento de Agricultura y Medio Ambiente (Gobierno de Aragón)*, 68, 8.
- Albertí, P., Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J. L., Ripoll, G., Ertbjerg, P., Christensen, M., Gigli, S., Failla, S., Concetti, S., Hocquette, J. F., Jailler, R., Rudel, S., Renand, G., Nute, G. R., Richardson, R. I. & Williams, J. L. 2008. Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. *Livestock Science*, 114, 19-30.
- Albertí, P., Ripoll, G., Goyache, F., Lahoz, F., Olleta, J. L., Panea, B. & Sañudo, C. 2005. Carcass characterisation of seven Spanish beef breeds slaughtered at two commercial weights. *Meat Science*, 71, 514-521.
- Aldai, N., Murray, B. E., Oliván, M., Martínez, A., Troy, D. J., Osoro, K. & Nájera, A. I. 2006. The influence of breed and mh-genotype on carcass conformation, meat physico-chemical characteristics, and the fatty acid profile of muscle from yearling bulls. *Meat Science*, 72, 486-495.
- Aldai, N., Nájera, A. I., Dugan, M. E. R., Celaya, R. & Osoro, K. 2007. Characterisation of intramuscular, intermuscular and subcutaneous adipose tissues in yearling bulls of different genetic groups. *Meat Science*, 76, 682-691.
- Alfaia, C. M. M., Ribeiro, V. S. S., Lourenço, M. R. A., Quaresma, M. A. G., Martins, S. I. V., Portugal, A. P. V., Fontes, C. M. G. A., Bessa, R. J. B., Castro, M. L. F. & Prates, J. A. M. 2006. Fatty acid composition, conjugated linoleic acid isomers and cholesterol in beef from crossbred bullocks intensively produced and from Alentejana purebred bullocks reared according to Carnalentejana-PDO specifications. *Meat Science*, 72, 425-436.
- Alfaia, C. P. M., Alves, S. P., Martins, S. I. V., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., Lemos, J. P. C., Bessa, R. J. B. & Prates, J. A. M. 2009. Effect of the feeding system on intramuscular fatty acids and conjugated linoleic acid isomers of beef cattle, with emphasis on their nutritional value and discriminatory ability. *Food Chemistry*, 114, 939-946.
- AOAC (ed.) 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, Arlington.
- Arango, J. A. & Van Vleck, L. D. 2002. Size of beef cows: early ideas, new developments. *Genet Mol Res*, 1, 51-63.
- Asenjo, B. 1999. Efecto de la raza y de la alimentación en los parámetros productivos y de calidad de canal y de carne en añojos de razas charolés y serrana soriana. *Departamento de Ciencias Agroforestales*. Universidad de Valladolid, Valladolid.
- Baeza, M. C., Corva, P. M., Soria, L. A., Pavan, E., Rincon, G. & Medrano, J. F. 2013. Genetic variants in a lipid regulatory pathway as potential tools for improving the nutritional quality of grass-fed beef. *Animal Genetics*, 44, 121-129.
- Barendse, W. J. 2002. Dna markers for meat tenderness. Google Patents.
- Barillet, F. 2007. Genetic improvement for dairy production in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 70, 60-75.
- Bass, J. J., Colomer-Rocher, F. & Johnson, D. L. 1981. Relationships between New Zealand beef conformation classes, carcass composition, and muscle dimensions. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 24, 281-284.
- Baum, S. J., Kris-Etherton, P. M., Willett, W. C., Lichtenstein, A. H., Rudel, L. L., Maki, K. C., Whelan, J., Ramsden, C. E. & Block, R. C. 2012. Fatty acids in cardiovascular health and disease: A comprehensive update. *Journal of Clinical Lipidology*, 6, 216-234.
- Bejarano-Bella, J. F. & Torres-Rodríguez, A. 2016. El papel de la ganadería tradicional en la conservación del Espacio Natural Doñana (España). Análisis socio-histórico de un conflicto ambiental. *Ambiente y Sostenibilidad*, 5, 110-117.

- Belew, J. B., Brooks, J. C., McKenna, D. R. & Savell, J. W. 2003. Warner–Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Science*, 64, 507-512.
- Berg, R. T. & Butterfield, R. M. 1976. *New Concepts of Cattle Growth*, New York.
- Boccard, R. L., Naudé, R. T., Cronje, D. E., Smit, M. C., Venter, H. J. & Rossouw, E. J. 1979. The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. *Meat Science*, 3, 261-280.
- Boer, H. D., Dumont, B. L., Pomeroy, R. W. & Weniger, J. H. 1974. Manual on E.A.A.P. Reference Methods for the assessment of carcass characteristics in cattle. *Livestock Production Science*, 1, 151-164.
- Bourre, J.-M. 2007. Dietary omega-3 fatty acids for women. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61, 105-112.
- Bressan, M. C., Rodrigues, E. C., Paula, M. d. L. d., Ramos, E. M., Portugal, P. V., Silva, J. S., Bessa, R. B. & Telo da Gama, L. 2016. Differences in intramuscular fatty acid profiles among *Bos indicus* and crossbred *Bos taurus* × *Bos indicus* bulls finished on pasture or with concentrate feed in Brazil. *Italian Journal of Animal Science*, 15, 10-21.
- Bressan, M. C., Rossato, L. V., Rodrigues, E. C., Alves, S. P., Bessa, R. J. B., Ramos, E. M. & Gama, L. T. 2011. Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. *Journal of Animal Science*, 89, 221-232.
- Brody, S. 1945. *Bioenergetics and growth*. Reinhold Publishing Corp.
- Brown, J. E., Fitzhugh, H. A. & Cartwright, T. C. 1976. A Comparison of Nonlinear Models for Describing Weight-Age Relationships in Cattle. *Journal of Animal Science*, 42, 810-818.
- Brugiapaglia, A., Lussiana, C. & Destefanis, G. 2014. Fatty acid profile and cholesterol content of beef at retail of Piemontese, Limousin and Friesian breeds. *Meat Science*, 96, 568-573.
- Buchanan, F., Thue, T. D. & Winkelman-Sim, D. 2013. CRH and POMC effects on animal growth. Google Patents.
- Calderón, J. 2008. *La vaca Mostrenca de Doñana*, 1ª edn. ICONA (Organismo Autónomo de Parques Nacionales), Madrid.
- Cañeque, V. & Sañudo, C. 2000. *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- Carballo, J. A., Monserrat, L. & Sánchez, L. 2000. Composición de la canal bovina. In: Cañeque, V. & Sañudo, C. (eds.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- Carolino, R. N. P. & Gama, L. T. 1993. Análise do crescimento corporal nas espécies pecuárias. *Veterinária Técnica*, 3, 14-21.
- Cheong, H. S., Yoon, D.-H., Park, B. L., Kim, L. H., Bae, J. S., Namgoong, S., Lee, H. W., Han, C. S., Kim, J. O., Cheong, I.-C. & Shin, H. D. 2008. A single nucleotide polymorphism in CAPN1 associated with marbling score in Korean cattle. *BMC Genetics*, 9, 33.
- Chilliard, Y., Delavaud, C. & Bonnet, M. 2005. Leptin expression in ruminants: Nutritional and physiological regulations in relation with energy metabolism. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 3-22.
- Chung, K. Y., Lunt, D. K., Kawachi, H., Yano, H. & Smith, S. B. 2007. Lipogenesis and stearoyl-CoA desaturase gene expression and enzyme activity in adipose tissue of short- and long-fed Angus and Wagyu steers fed corn- or hay-based diets. *J Anim Sci*, 85, 380-7.
- CIE, C. I. d. I. É. 1978. Recommendations on uniform color spaces, color difference equations, psychometric color terms. . *Supplement No.2 to CIE publication No.15 (E.-1.3.1) 1971/(TC-1.3.)*. Paris: Bureau Central de la CIE.
- Costa, P., Lemos, J. P., Lopes, P. A., Alfaia, C. M., Costa, A. S. H., Bessa, R. J. B. & Prates, J. A. M. 2012. Effect of low- and high-forage diets on meat quality and fatty acid composition of Alentejana and Barros? beef breeds. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience*, 6, 1187-97.
- Costa, P., Roseiro, L. C., Partidário, A., Alves, V., Bessa, R. J. B., Calkins, C. R. & Santos, C. 2006. Influence of slaughter season and sex on fatty acid composition, cholesterol and α -tocopherol contents on different muscles of Barrosã-PDO veal. *Meat Science*, 72, 130-139.
- Daley, C., Abbott, A., Doyle, P., Nader, G. & Larson, S. 2010. A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. *Nutrition Journal*, 9, 10.

- Daniel, Z. C. T. R., Wynn, R. J., Salter, A. M. & Buttery, P. J. 2004. Differing effects of forage and concentrate diets on the oleic acid and conjugated linoleic acid content of sheep tissues: The role of stearoyl-CoA desaturase1,2. *Journal of Animal Science*, 82, 747-58.
- Daza, A., Rey, A. I., Lopez-Carrasco, C. & Lopez-Bote, C. J. 2014. Effect of gender on growth performance, carcass characteristics and meat and fat quality of calves of Avileña-Negra Ibérica breed fattened under free-range conditions. 2014, 12, 11.
- De Behr, V., Hornick, J. L., Cabaraux, J. F., Alvarez, A. & Istasse, L. 2001. Growth patterns of Belgian Blue replacement heifers and growing males in commercial farms. *Livestock Production Science*, 71, 121-130.
- Decker, E. A. & Park, Y. 2010. Healthier meat products as functional foods. *Meat Science*, 86, 49-55.
- Del Campo, M., Brito, G., de Lima, J. M. S., Martins, D. V., Sañudo, C., Julián, R. S., Hernández, P. & Montossi, F. 2008. Effects of feeding strategies including different proportion of pasture and concentrate, on carcass and meat quality traits in Uruguayan steers. *Meat Science*, 80, 753-760.
- Delgado, J. V. 2011. Las razas locales y el cambio climático. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 1, 5.
- Dias, L. G., Correia, D. M., Sá-Morais, J., Sousa, F., Pires, J. M. & Peres, A. M. 2008. Raw bovine meat fatty acids profile as an origin discriminator. *Food Chemistry*, 109, 840-847.
- Dinh, T. T. N., Blanton, J. R., Jr., Riley, D. G., Chase, C. C., Jr., Coleman, S. W., Phillips, W. A., Brooks, J. C., Miller, M. F. & Thompson, L. D. 2010. Intramuscular fat and fatty acid composition of longissimus muscle from divergent pure breeds of cattle. *Journal of Animal Science*, 88, 756-66.
- Dugan, M., Aldai, N., Aalhus, J., Rolland, D. & Kramer, J. 2011. Review: Trans-forming beef to provide healthier fatty acid profiles. *Canadian Journal of Animal Science*, 91, 545-556.
- Dunner, S., Sevane, N., García, D., Cortés, O., Valentini, A., Williams, J. L., Mangin, B., Cañón, J. & Levéziel, H. 2013. Association of genes involved in carcass and meat quality traits in 15 European bovine breeds. *Livestock Science*, 154, 34-44.
- England, E. M., Scheffler, T. L., Kasten, S. C., Matarneh, S. K. & Gerrard, D. E. 2013. Exploring the unknowns involved in the transformation of muscle to meat. *Meat Science*, 95, 837-843.
- Espejo, M., García, S., López, M. M., Izquierdo, M., Robles, A. & Costela, A. 2000. Morfología de la canal bovina. In: Alimentaria, I. N. I. y. T. A. y. (ed.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- FAO. 2007a. Global Plan of Action for Animal Genetic Resources and the Interlaken Declaration. Commission on genetic resources for food and agriculture organization of the united nations, Rome.
- FAO. 2007b. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. Commission on genetic resources for food and agriculture organization of the united nations, Rome.
- FAO. 2008. Fats and fatty acids in human nutrition. Report of an expert consultation. *Food and Nutrition Paper*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Geneva.
- FAO. 2017a. DAD-IS.
- FAO. 2017b. El trabajo de la FAO sobre el cambio climático. In: Agricultura, O. d. I. N. U. p. I. A. y. I. (ed.) *COP23: Conferencia de las Naciones Unidas sobre el cambio climático 2017*. FAO, Bonn, Alemania.
- FAO. 2017c. Los recursos genéticos para la alimentación y la agricultura y el cambio climático. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fernández, M., Gómez, M., Delgado, J. V., Adán, S. & Jiménez, M. 2009. *Guía de Campo de las Razas Autóctonas Españolas*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid, España.
- Fitzhugh, H. A. 1976. Analysis of Growth Curves and Strategies for Altering Their Shape1, 2. *Journal of Animal Science*, 42, 1036-1051.
- Folch, J., Lees, M. & Sloane Stanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem*, 226, 497-509.
- Forni, S., Piles, M., Blasco, A., Varona, L., Oliveira, H. N., Lobo, R. B. & Albuquerque, L. G. 2009a. Comparison of different nonlinear functions to describe Nelore cattle growth. *Journal of animal science*, 87, 496-506.

- Forni, S., Piles, M., Blasco, A., Varona, L., Oliveira, H. N., Lôbo, R. B. & Albuquerque, L. G. 2009b. Comparison of different nonlinear functions to describe Nelore cattle growth. *Journal of Animal Science*, 87, 496-506.
- Fortin, A., Reid, J. T., Maiga, A. M., Sim, D. W. & Wellington, G. H. 1980. Effect of energy intake level and influence of breed and sex on the physical composition of the carcass of cattle. *Journal of Animal Science*, 51, 331-339.
- Freitas, A. R. d. 2005. Curvas de crescimento na produção animal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34, 786-795.
- French, P., O'Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P. J., Mooney, M. T., Troy, D. J. & Moloney, A. P. 2001. The eating quality of meat of steers fed grass and/or concentrates. *Meat Science*, 57, 379-386.
- French, P., O'Riordan, E. G., Monahan, F. J., Caffrey, P. J., Vidal, M., Mooney, M. T., Troy, D. J. & Moloney, A. P. 2000a. Meat quality of steers finished on autumn grass, grass silage or concentrate-based diets. *Meat Science*, 56, 173-180.
- French, P., Stanton, C., Lawless, F., O'Riordan, E. G. & et al. 2000b. Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate-based diets. *Journal of Animal Science*, 78, 2849-55.
- Gagnière, H., Picard, B., Jurie, C. & Geay, Y. 1997. Comparative study of metabolic differentiation of foetal muscle in normal and double-musled cattle. *Meat Science*, 45, 145-152.
- García-Torres, S., López-Gajardo, A. & Mesías, F. J. 2016. Intensive vs. free-range organic beef. A preference study through consumer liking and conjoint analysis. *Meat Science*, 114, 114-120.
- Garnero, A. D. V., Marcondes, C. R., Bezerra, L. A. F., Oliveira, H. N. & Lôbo, R. B. 2005. Parâmetros genéticos da taxa de maturação e do peso assintótico de fêmeas da raça Nelore. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57, 652-662.
- Gil, Á. 2002. Polyunsaturated fatty acids and inflammatory diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56, 388-396.
- Gill, J. L., Bishop, S. C., McCorquodale, C., Williams, J. L. & Wiener, P. 2010. Associations between single nucleotide polymorphisms in multiple candidate genes and carcass and meat quality traits in a commercial Angus-cross population. *Meat Science*, 86, 985-993.
- Goonewardene, L. A., Berg, R. T. & Hardin, R. T. 1981. A growth study of beef cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 61, 1041-1048.
- Grau, R. & Hamm, R. 1953. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Wasserbindung im Muskel. *Die Naturwissenschaften*, 40, 29-30.
- Grosso, G., Micek, A., Marventano, S., Castellano, S., Mistretta, A., Pajak, A. & Galvano, F. 2016. Dietary n-3 PUFA, fish consumption and depression: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Journal of Affective Disorders*, 205, 269-281.
- Hamm, R. 1961. Biochemistry Of Meat Hydration. In: Chichester, C. O. & Mrak, E. M. (eds.) *Advances in Food Research*. Academic Press.
- Hamm, R. 1986. Functional properties of the myofibrillar system and their measurements. In: Bechtel, P. J. (ed.) *Muscle and food*. Academic Press, Orlando.
- Hirooka, H. 2010. Systems approaches to beef cattle production systems using modeling and simulation. *Animal science journal*, 81, 411-424.
- Huff-Lonergan, E. & Lonergan, S. M. 2005. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194-204.
- Humada, M. J., Serrano, E., Sañudo, C., Rolland, D. C. & Dugan, M. E. R. 2012. Production system and slaughter age effects on intramuscular fatty acids from young Tudaanca bulls. *Meat Science*, 90, 678-685.
- Indurain, G., Beriain, M. J., Sarries, M. V. & Insausti, K. 2010. Effect of weight at slaughter and breed on beef intramuscular lipid classes and fatty acid profile. *animal*, 4, 1771-1780.
- Jarvis, G. N. & Moore, E. R. B. 2010. Lipid Metabolism and the Rumen Microbial Ecosystem. In: Timmis, K. N. (ed.) *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

- Kelly, M. L., Berry, J. R., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Chouinard, P. Y., Van Amburgh, M. E. & Bauman, D. E. 1998. Dietary Fatty Acid Sources Affect Conjugated Linoleic Acid Concentrations in Milk from Lactating Dairy Cows. *The Journal of Nutrition*, 128, 881-885.
- Kemp, C. M. & Parr, T. 2012. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation. *Meat Science*, 92, 252-259.
- Kempster, A. J., Avis, P. R. D. & Smith, R. J. 2010. Fat distribution in steer carcasses of different breeds and crosses. 2. Distribution between joints. *Animal Science*, 23, 223-232.
- Koohmaraie, M. & Geesink, G. H. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science*, 74, 34-43.
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*, 33, 1870-4.
- Lage, J. F., Paulino, P. V. R., Filho, S. C. V., Souza, E. J. O., Duarte, M. S., Benedeti, P. D. B., Souza, N. K. P. & Cox, R. B. 2012. Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. *Meat Science*, 90, 770-774.
- Lawrence, G. D. 2013. Dietary Fats and Health: Dietary Recommendations in the Context of Scientific Evidence. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 4, 294-302.
- Lawrie, R. A. 1998. *Ciencia de la carne*, Tercera edn. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Lazo, A. & Sorriquer, R. C. 1993. Size-biased foraging behaviour in feral cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 36, 99-110.
- Lazo, A. 1995. Ranging behaviour of feral cattle (*Bos taurus*) in Doñana National Park, S.W. Spain. *Journal of Zoology*, 236, 359-369.
- León, J. M., Camacho, M. E., Nogales, S. & Gómez, M. 2009. 21. Marismeña. In: Ministerio de Agricultura y Pesca, A. y M. A. S. G. T. C. d. p. (ed.) *Guía de campo de las razas autóctonas españolas*. Madrid.
- Li, C., Aldai, N., Vinsky, M., Dugan, M. E. R. & McAllister, T. A. 2012. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in bovine stearoyl-CoA desaturase and fatty acid synthase genes with fatty acid composition in commercial cross-bred beef steers. *Animal Genetics*, 43, 93-97.
- Listrat, A., Leuret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., Picard, B. & Bugeon, J. 2016. How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *The Scientific World Journal*, 2016, 14.
- Lopes, F. B., Da Silva, M. C., Marques, E. G. & McManus, C. M. 2012. Analysis of longitudinal data of beef cattle raised on pasture from northern Brazil using nonlinear models. *Tropical Animal Health and Production*, 44, 1945-51.
- Lupi, T. M., Nogales, S., León, J. M., Barba, C. & Delgado, J. V. 2015. Characterization of commercial and biological growth curves in the Segureña sheep breed. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience*, 9, 1341-1348.
- Mancini, R. A. & Hunt, M. C. 2005. Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100-121.
- Manner, W., Maxwell, R. J. & Williams, J. E. 1984. Effects of Dietary Regimen and Tissue Site on Bovine Fatty Acid Profiles. *Journal of Animal Science*, 59, 109-121.
- Maraver, G. 2007. Historia de la asociación en defensa del ganado Marismeño en la villa de Almonte. In: Herrera, M. (ed.) *La raza equina Marismeña de Doñana*. Centro Cultural de la Villa, Mariano Herrera García, Sevilla.
- Marsh, D. J., Hollopeter, G., Huszar, D., Laufer, R., Yagaloff, K. A., Fisher, S. L., Burn, P. & Palmiter, R. D. 1999. Response of melanocortin-4 receptor-deficient mice to anorectic and orexigenic peptides. *Nat Genet*, 21, 119-22.
- Martínez, A. M., Gama, L. T., Cañón, J., Ginja, C., Delgado, J. V., Dunner, S., Landi, V., Martín-Burriel, I., Penedo, M. C. T., Rodellar, C., Vega-Pla, J. L., Acosta, A., Álvarez, L. A., Camacho, E., Cortés, O., Marques, J. R., Martínez, R., Martínez, R. D., Melucci, L., Martínez-Velázquez, G., Muñoz, J. E., Postiglioni, A., Quiroz, J., Sponenberg, P., Uffo, O., Villalobos, A., Zambrano, D. & Zaragoza, P. 2012. Genetic Footprints of Iberian Cattle in America 500 Years after the Arrival of Columbus. *PLOS ONE*, 7, e49066.
- Martínez, A., Calderón, J., Camacho, M. E., Rico, C., Vega-Pla, J. L. & Delgado, J. V. 2005. Caracterización genética de la raza bovina Mostrenca con microsatélites. *Archivos de Zootecnia*, 54, 357-361.

- Matsushashi, T., Maruyama, S., Uemoto, Y., Kobayashi, N., Mannen, H., Abe, T., Sakaguchi, S. & Kobayashi, E. 2011. Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle¹. *Journal of Animal Science*, 89, 12-22.
- McAfee, A. J., McSorley, E. M., Cuskelly, G. J., Moss, B. W., Wallace, J. M., Bonham, M. P. & Fearon, A. M. 2010. Red meat consumption: an overview of the risks and benefits. *Meat Sci*, 84, 1-13.
- Menchaca, M. A., Chase, C. C., Jr., Olson, T. A. & Hammond, A. C. 1996. Evaluation of growth curves of Brahman cattle of various frame sizes. *J Anim Sci*, 74, 2140-51.
- Mensink, R. 2005. Effects of stearic acid on plasma lipid and lipoproteins in humans. *Lipids*, 40, 1201-1205.
- Miller, S. A., Dykes, D. D. & Polesky, H. F. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*, 16, 1215.
- Ministerio de Agricultura y Pesca, A. y. M. A. 2017. Despiece del Vacuno. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
- Miranda-de la Lama, G. C., Sepúlveda, W. S., Villarroel, M. & María, G. A. 2013. Attitudes of meat retailers to animal welfare in Spain. *Meat Science*, 95, 569-575.
- Moloney, A. P., Mooney, M. T., Troy, D. J. & Keane, M. G. 2011. Finishing cattle at pasture at 30months of age or indoors at 25months of age: Effects on selected carcass and meat quality characteristics. *Livestock Science*, 141, 17-23.
- Moreira, R. P., Zerlotti Mercadante, M. E., Breno Pedrosa, V., dos Santos Gonçalves Cyrillo, J. N. & Henrique, W. 2016. Growth curves on females of the Caracu breed. *Ciências Agrárias*, 37, 2749-2758.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, A. & Raats, J. G. 2009. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. *Food Chemistry*, 112, 279-289.
- Muir, P. D., Beaker, J. M. & Brown, M. D. 1998. Effects of forage- and grain-based feeding systems on beef quality: A review. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 41, 623-635.
- Nadarajah, K., Marlowe, T. J. & Notter, D. R. 1984. Growth Patterns of Angus, Charolais, Charolais × Angus and Holstein × Angus Cows from Birth to Maturity. *Journal of Animal Science*, 59, 957-966.
- Nkrumah, J. D., Li, C., Basarab, J. B., Guercio, S., Meng, Y., Murdoch, B., Hansen, C. & Moore, S. S. 2004. Association of a single nucleotide polymorphism in the bovine leptin gene with feed intake, feed efficiency, growth, feeding behaviour, carcass quality and body composition. *Canadian Journal of Animal Science*, 84, 211-219.
- Nogales, S., Bressan, M. C., Delgado, J. V., Telo da Gama, L., Barba, C. & Camacho, M. E. 2017. Fatty acid profile of feral cattle meat. *Italian Journal of Animal Science*, 16, 172-184.
- Ntambi, J. M. 1999. Regulation of stearoyl-CoA desaturase by polyunsaturated fatty acids and cholesterol. *J Lipid Res*, 40, 1549-58.
- Nuernberg, K., Dannenberger, D., Nuernberg, G., Ender, K., Voigt, J., Scollan, N. D., Wood, J. D., Nute, G. R. & Richardson, R. I. 2005. Effect of a grass-based and a concentrate feeding system on meat quality characteristics and fatty acid composition of longissimus muscle in different cattle breeds. *Livestock Production Science*, 94, 137-147.
- Offer, G. & Knight, P. 1988. The structural basis of water-holding in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. In: Lawrie, R. A. (ed.) *Developments in meat science*. Elsevier, London.
- Oliván, M., Martínez, A., Osoro, K., Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J. L., Campo, M. M., Oliver, M. À., Serra, X., Gil, M. & Piedrafita, J. 2004. Effect of muscular hypertrophy on physico-chemical, biochemical and texture traits of meat from yearling bulls. *Meat Science*, 68, 567-575.
- Oliván, M., Mocha, M., Martínez, M. J., García, M. J., Noval, G. & Osoro, K. 2000. Análisis químico de la carne. In: Cañeque, V. & Sañudo, C. (eds.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- Orrù, L., Cifuni, G. F., Piasentier, E., Corazzin, M., Bovolenta, S. & Moiola, B. 2011. Association analyses of single nucleotide polymorphisms in the LEP and SCD1 genes on the fatty acid profile of muscle fat in Simmental bulls. *Meat Science*, 87, 344-348.

- Papaleo Mazzucco, J., Goszczynski, D. E., Ripoli, M. V., Melucci, L. M., Pardo, A. M., Colatto, E., Rogberg-Muñoz, A., Mezzadra, C. A., Depetris, G. J., Giovambattista, G. & Villarreal, E. L. 2016. Growth, carcass and meat quality traits in beef from Angus, Hereford and cross-breed grazing steers, and their association with SNPs in genes related to fat deposition metabolism. *Meat Science*, 114, 121-129.
- Perotto, D., Cue, R. I. & Lee, A. J. 1992. Comparison of nonlinear functions for describing the growth curve of three genotypes of dairy cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, 72, 773-782.
- Piedrafita, J., Quintanilla, R., Sañudo, C., Olleta, J.-L., Campo, M.-M., Panea, B., Renand, G., Turin, F., Jabet, S., Osoro, K., Oliván, M.-C., Noval, G., García, P., García, M.-D., Oliver, M.-A., Gispert, M., Serra, X., Espejo, M., García, S., López, M. & Izquierdo, M. 2003. Carcass quality of 10 beef cattle breeds of the Southwest of Europe in their typical production systems. *Livestock Production Science*, 82, 1-13.
- Pitchford, W. S., Deland, M. P., Siebert, B. D., Malau-Aduli, A. E. & Bottema, C. D. 2002. Genetic variation in fatness and fatty acid composition of crossbred cattle. *J Anim Sci*, 80, 2825-32.
- Pla, M. 2000. Medida de la capacidad de retención de agua. In: Cañeque, V. & Sañudo, C. (eds.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- PNUD. 2017. Objetivos de Desarrollo Sostenible. Programa de las Naciones Unidas para el desarrollo.
- Priolo, A., Micol, D. & Agabriel, J. 2001. Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour. A review. *Anim. Res.*, 50, 185-200.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, Manuel A R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, Paul I W., Daly, Mark J. & Sham, Pak C. 2007. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81, 559-575.
- Raes, K., S. de Smet, A. & Demeyer, D. 2001. Effect of double-muscling in Belgian Blue young bulls on the intramuscular fatty acid composition with emphasis on conjugated linoleic acid and polyunsaturated fatty acids. *Animal Science*, 73, 253-260.
- Ratkowsky, D. A. 1983. *Nonlinear regression modeling : a unified practical approach*. Dekker, New York, N.Y. ; Basel.
- Razminowicz, R. H., Kreuzer, M. & Scheeder, M. R. L. 2006. Quality of retail beef from two grass-based production systems in comparison with conventional beef. *Meat Science*, 73, 351-361.
- Realini, C. E., Duckett, S. K., Brito, G. W., Dalla Rizza, M. & De Mattos, D. 2004. Effect of pasture vs. concentrate feeding with or without antioxidants on carcass characteristics, fatty acid composition, and quality of Uruguayan beef. *Meat Science*, 66, 567-577.
- Refsgaard Andersen, H. 1975. The influence of slaughter weight and level of feeding on growth rate, feed conversion and carcass composition of bulls. *Livestock Production Science*, 2, 341-355.
- Rodero, A., Delgado, J. V. & Rodero, E. 1992. Primitive andalusian livestock and their implicatios in the discovery of America. *Archivos de Zootecnia*, (extra), 383-400.
- Rule, D. C., Broughton, K. S., Shellito, S. M. & Maiorano, G. 2002. Comparison of muscle fatty acid profiles and cholesterol concentrations of bison, beef cattle, elk, and chicken. *Journal of Animal Science*, 80, 1202-11.
- Santoro, K. R., Barbosa, S. B. P., Brasil, L. H. d. A. & Santos, E. d. S. 2005. Estimativas de parâmetros de curvas de crescimento de bovinos Zebu, criados no estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 34, 2262-2279.
- Sañudo, C., Olleta, J. L., Campo, M. M., Alfonso, M. & Panea, B. 2000a. Propuesta de muestreo. In: Cañeque, V. & Sañudo, C. (eds.) *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Instituto Nacional Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, Madrid.
- Sañudo, C., Olleta, J. L., Campo, M. M., Panea, B., Renand, B., Turin, F., Jabet, S., Osoro, K., Oliván, C., Noval, G., García, M. J., García, D., Cruz-Sagredo, R., Oliver, M. A., Gil, M., Gispert, M., Serra, X., Guerrero, L., Espejo, M., García, S., López, M., Izquierdo, M., Quintanilla, R., Martín, M. & Piedrafita, J. 2000b. Meat quality of ten cattle breeds of the Southwest of Europe. *Project FAIR CT95 0702. Final report*.
- SAS. 2002. User's Guide: Statistics, Version 9.0 ed. *SAS Institute Inc., Cary, NC*.

- Scerra, M., Foti, F., Cilione, C., Chies, L., Scerra, V. & Caparra, P. 2014. Influence of stall finishing of Podolian young bulls raised on pasture on fatty acid composition and oxidative status of meat. *2014*, 13.
- Schabenberger, O. 2017. SAS/STAT(R) 9.22 User's Guide. SAS.
- Schenkel, F. S., Miller, S. P., Jiang, Z., Mandell, I. B., Ye, X., Li, H. & Wilton, J. W. 2006. Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J Anim Sci*, 84, 291-9.
- Scollan, N. D., Dannenberger, D., Nuernberg, K., Richardson, I., MacKintosh, S., Hocquette, J.-F. & Moloney, A. P. 2014. Enhancing the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, 97, 384-394.
- Scollan, N., Hocquette, J.-F., Nuernberg, K., Dannenberger, D., Richardson, I. & Moloney, A. 2006. Innovations in beef production systems that enhance the nutritional and health value of beef lipids and their relationship with meat quality. *Meat Science*, 74, 17-33.
- Seong, J. & Kong, H. S. 2015. Association between polymorphisms of the CRH and POMC genes with economic traits in Korean cattle (Hanwoo). *Genet Mol Res*, 14, 10415-21.
- Sevane, N., Armstrong, E., Cortés, O., Wiener, P., Wong, R. P. & Dunner, S. 2013. Association of bovine meat quality traits with genes included in the PPARG and PPARGC1A networks. *Meat Science*, 94, 328-335.
- Sevane, N., Armstrong, E., Wiener, P., Pong Wong, R. & Dunner, S. 2014a. Polymorphisms in twelve candidate genes are associated with growth, muscle lipid profile and meat quality traits in eleven European cattle breeds. *Molecular Biology Reports*, 41, 4721-4731.
- Sevane, N., Crespo, I., Cañón, J. & Dunner, S. 2011. A Primer-Extension Assay for simultaneous use in cattle Genotype Assisted Selection, parentage and traceability analysis. *Livestock Science*, 137, 141-150.
- Sevane, N., Nute, G., Sañudo, C., Cortes, O., Cañón, J., Williams, J. L. & Dunner, S. 2014b. Muscle lipid composition in bulls from 15 European breeds. *Livestock Science*, 160, 1-11.
- Shackelford, S. D., Koochmarai, M., Cundiff, L. V., Gregory, K. E., Rohrer, G. A. & Savell, J. W. 1994. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield, and growth rate. *J Anim Sci*, 72, 857-63.
- Shingfield, K. J., Bonnet, M. & Scollan, N. D. 2013. Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived foods. *Animal: an International Journal of Animal Bioscience*, 7, 132-62.
- Sierra, I. 1973. *Aportación al estudio del cruce Blanco Belga X Landrace: caracteres productivos, calidad de la canal y de la carne*. Instituto de Economía y Producciones Ganaderas del Ebro, Zaragoza.
- Sierra, I. 2001. El concepto de raza: evolución y realidad. *Archivos de Zootecnia*, 50, 547-564.
- Simona Noaghiul & Joseph R. Hibbeln. 2003. Cross-National Comparisons of Seafood Consumption and Rates of Bipolar Disorders. *American Journal of Psychiatry*, 160, 2222-2227.
- Singh, U., Deb, R., Alyethodi, R. R., Alex, R., Kumar, S., Chakraborty, S., Dhama, K. & Sharma, A. 2014. Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 6, 49-58.
- Smet, S. D., Raes, K. & Demeyer, D. 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. *Anim. Res.*, 53, 81-98.
- Sorbolini, S., Bongiorno, S., Cellesi, M. & Gaspa, G. 2017. Genome wide association study on beef production traits in Marchigiana cattle breed. 134, 43-48.
- Sousa, F., Lorenzo, J. M., Inglesias, A., Cantalapiedra, J. & Franco, D. 2016. Características de la canal de terneros de la Denominación de Origen Protegida Mirandesa. *Archivos de Zootecnia*, 65, 253-258.
- Steen, R. W. J. & Kilpatrick, D. J. 1995. Effects of plane of nutrition and slaughter weight on the carcass composition of serially slaughtered bulls, steers and heifers of three breed crosses. *Livestock Production Science*, 43, 205-213.
- Subdirección General de Estadística. 2015. Encuestas de efectivos de ganado bovino. Noviembre 2015. Centro de Publicaciones. Secretaría General Técnica. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, España.

- Subdirección General de Productos Ganaderos. 2016. Caracterización del sector vacuno de carne en España. Centro de Publicaciones. Secretaría General Técnica. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente ed. Dirección General de Producciones y Mercados Agrarios. Ministerio De Agricultura Y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid, España.
- Szczesniak, A. S. 1963. Objective Measurements of Food Texturea. *Journal of Food Science*, 28, 410-420.
- Taniguchi, M., Utsugi, T., Oyama, K., Mannen, H., Kobayashi, M., Tanabe, Y., Ogino, A. & Tsuji, S. 2004. Genotype of stearyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome*, 15, 142-148.
- Tian, J., Zhao, Z., Zhang, L., Zhang, Q., Yu, Z., Li, J. & Yang, R. 2013. Association of the leptin gene E2-169T & C and E3-299T & A mutations with carcass and meat quality traits of the Chinese Simmental-cross steers. *Gene*, 518, 443-448.
- Ulbricht, T. L. & Southgate, D. A. 1991. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 338, 985-92.
- Upadhyay, M. R., Chen, W., Lenstra, J. A., Goderie, C. R. J., MacHugh, D. E., Park, S. D. E., Magee, D. A., Matassino, D., Ciani, F., Megens, H. J., van Arendonk, J. A. M., Groenen, M. A. M., European Cattle Genetic Diversity, C. & Crooijmans, R. 2016. Genetic origin, admixture and population history of aurochs (*Bos primigenius*) and primitive European cattle. *Heredity*, 118, 169.
- Uytterhaegen, L., Claeys, E., Demeyer, D., Lippens, M., Fiems, L. O., Boucque, C. Y., Van de Voorde, G. & Bastiaens, A. 1994. Effects of double-muscling on carcass quality, beef tenderness and myofibrillar protein degradation in Belgian Blue White bulls. *Meat Sci*, 38, 255-67.
- Venkata Reddy, B., Sivakumar, A. S., Jeong, D. W., Woo, Y.-B., Park, S.-J., Lee, S.-Y., Byun, J.-Y., Kim, C.-H., Cho, S.-H. & Hwang, I. 2015. Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. *Animal Science Journal*, 86, 1-16.
- Vestergaard, M., Oksbjerg, N. & Henckel, P. 2000a. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of semitendinosus, longissimus dorsi and supraspinatus muscles of young bulls. *Meat Science*, 54, 177-185.
- Vestergaard, M., Therkildsen, M., Henckel, P., Jensen, L. R., Andersen, H. R. & Sejrsen, K. 2000b. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on meat and eating quality of young bulls and the relationship between muscle fibre characteristics, fibre fragmentation and meat tenderness. *Meat Science*, 54, 187-195.
- Vieira, C., Cerdeño, A., Serrano, E., Lavín, P. & Mantecón, A. R. 2007. Breed and ageing extent on carcass and meat quality of beef from adult steers (oxen). *Livestock Science*, 107, 62-69.
- Vigne, J. D. 2011. The origins of animal domestication and husbandry: a major change in the history of humanity and the biosphere. *C R Biol*, 334, 171-81.
- Viladomiu, M., Hontecillas, R. & Bassaganya-Riera, J. 2016. Modulation of inflammation and immunity by dietary conjugated linoleic acid. *European Journal of Pharmacology*, 785, 87-95.
- Viljoen, H. F., de Kock, H. L. & Webb, E. C. 2002. Consumer acceptability of dark, firm and dry (DFD) and normal pH beef steaks. *Meat Science*, 61, 181-185.
- Warren, H. E., Scollan, N. D., Enser, M., Hughes, S. I., Richardson, R. I. & Wood, J. D. 2008. Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. I: Animal performance, carcass quality and muscle fatty acid composition. *Meat Science*, 78, 256-269.
- Warriss, P. D. 2000. *Meat Science: An Introductory Text*. CABI Pub.
- Wheeler, T. L. & Koohmaraie, M. 1991. A modified procedure for simultaneous extraction and subsequent assay of calcium-dependent and lysosomal protease systems from a skeletal muscle biopsy. *Journal of animal science*, 69, 1559-1565.
- Williams, J. L., Dunner, S., Valentini, A., Mazza, R., Amarger, V., Checa, M. L., Crisa, A., Razzaq, N., Delourme, D., Grandjean, F., Marchitelli, C., Garcia, D., Gomez, R. P., Negrini, R., Marsan, P. A. & Leveziel, H. 2009. Discovery, characterization and validation of single nucleotide polymorphisms within 206 bovine genes that may be considered as candidate genes for beef production and quality. *Anim Genet*, 40, 486-91.
- Wilson, D. E. & Reeder, D. M. 2005. *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.

- Wood, J. D., Enser, M., Fisher, A. V., Nute, G. R., Sheard, P. R., Richardson, R. I., Hughes, S. I. & Whittington, F. M. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*, 78, 343-358.
- Wu, Z., Ohajuruka, O. A. & Palmquist, D. L. 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *J Dairy Sci*, 74, 3025-34.
- Zeuner, F. E. 1963. *A history of domesticated animals*. London: Hutchinson & Co. (Publishers) Ltd.
- Zhang, H., Pajmans, J. L. A., Chang, F., Wu, X., Chen, G., Lei, C., Yang, X., Wei, Z., Bradley, D. G., Orlando, L., O'Connor, T. & Hofreiter, M. 2013. Morphological and genetic evidence for early Holocene cattle management in northeastern China. *Nature Communications*, 4, 2755.
- Zhang, S. X., Farouk, M. M., Young, O. A., Wieliczko, K. J. & Podmore, C. 2005. Functional stability of frozen normal and high pH beef. *Meat Science*, 69, 765-772.

