

La comparación de perfiles transcriptómicos entre variedades de cerdo ibérico explica diferencias fenotípicas en la calidad de la carne.

A Villaplana^{1,2}, N Ibáñez-Escriche^{*3}, RN Pena⁴, L Muñoz⁵, E González⁶, J.F Tejada⁶, J.L Noguera⁷

*noeibes@dca.upv.es

¹The Roslin Institute, Royal (Dick) School of Veterinary Studies, The University of Edinburgh, Easter Bush Campus, Midlothian, Edinburgh EH25 9RG, Scotland

²Centre for Medical Informatics, Usher Institute, The University of Edinburgh, 9 Little France Road, Edinburgh, EH16 4UX

³Department for Animal Science and Thecnology, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

⁴Departament de Ciència Animal, Universitat de Lleida-Agrotecnio Center, 25198, Lleida, Spain

⁵INGA FOOD S.A, 06200, Almendralejo, Spain

⁶Tecnología de los alimentos, Universidad de Extremadura, 06006, Badajoz, Spain

⁷IRTA, Genètica i Millora Animal, 25198, Lleida, Spain

Resumen

La deposición de grasa intramuscular y el contenido de ácido graso oleico son dos características de la alta calidad de la carne que produce el cerdo ibérico. Estos dos parámetros presentan una gran variabilidad entre las variedades que conforman la raza de cerdo Ibérico. En un experimento previo, se llevó a cabo un cruce dialélico completo utilizando las variedades Retinto (RR) y Torbiscal (TT). En este experimento, se encontraron diferencias entre las variedades para la grasa intramuscular (GIM) y el perfil de ácidos grasos en *Longissimus thoracis*. El objetivo de este trabajo fue estudiar las diferencias de tejido muscular entre variedades a nivel transcriptómico utilizando la secuenciación del transcriptoma completo. Los resultados mostraron genes que participan en rutas metabólicas relacionadas con los caracteres de calidad de la carne expresados diferencialmente entre las variedades. Cabe destacar genes como *COX*, *ACA* y *SDHB* que participan en la biosíntesis de los ácidos grasos y se encontraron sobreexpresados en la variedad RR, caracterizada por su mayor contenido de GIM. Asimismo, los cerdos TT, con una GIM menor que los RR, expresaban altos niveles de una hormona (*ADIPOQ*) y un factor de transcripción (*SREBF1*) relacionados con la inhibición de la adipogénesis y el transporte de los lípidos. Además, el gen de la fosfolipasa *PLA2G7*, relacionada con el transporte de ácido oleico, también se sobreexpresó en la línea RR. Por tanto, este estudio identificó genes clave y rutas metabólicas que podrían explicar las diferencias fenotípicas de la calidad de la carne y la adiposidad entre los cerdos ibéricos.

Material y métodos

Diseño experimental. Los animales usados en este estudio proceden del experimento dialélico completo (3 × 3) de la empresa Inga Food S.A. Para este estudio se utilizaron únicamente dos de las variedades de ibérico (Retinto: RR y Torbiscal: TT) y sus cruces recíprocos. Durante el experimento, los animales fueron criados en condiciones intensivas comerciales. Los animales fueron engordados “ad libitum” y sacrificados en

un matadero comercial con una edad media de 340 días (~160 kg), momento en el que se obtuvo una muestra del músculo *Longissimus thoracis* (LT). De este tejido se determinó el porcentaje de grasa intramuscular (GIM) y el porcentaje de ácidos grasos Saturados (SFA), Monoinsaturados (MUFA) y Poliinsaturados (PUFA) (Ibáñez-Escriche et al., 2016).

Secuenciación del transcriptoma. Se extrajo ARN total mediante el *kit RiboPure* (Ambion, LifeTechnologies) de un subgrupo de 28 muestras de LT, correspondiente a 7 cerdos de cada tipo de cruce (RR, TT, RT y TR). Se comprobó la calidad del ARN mediante electroforesis en un 2100 *Bioanalyzer* (Agilent) y se secuenció por una aproximación de RNA-seq en una plataforma *illumina Hiseq 2500* con lecturas pareadas de una longitud de 100 pb. Se utilizó el programa *fastqc* para analizar la calidad de las lecturas, que fueron posteriormente alineadas usando el genoma de referencia porcino (Sscrofa11.1) con la herramienta *STAR* (Doblin, 2014).

Análisis de expresión diferencial. El proceso de cuantificación génica fue realizado con la herramienta *STAR* (Doblin, 2014). La determinación de los genes diferencialmente expresados se llevó a cabo con el paquete *edgeR v3.6* con el *software* R (Robinson et al., 2010; Chen et al., 2008). En el análisis consideramos como genes diferencialmente expresados aquellos cuyo “Fold Change” es mayor a 1.5 y cuyo p-valor ajustado por FDR es menor que 0.1.

Resultados y discusión

Los análisis de expresión determinaron que 3.799 genes (FDR <0.1) estaban diferencialmente expresados entre todos los cruces (tabla 1). Al filtrar los genes en función de las rutas metabólicas en las que participaban, se seleccionaron aquellos que pudieran influir en el perfil lipídico del cerdo (220 genes) y/o que tuvieran funciones reguladoras de estas rutas (30 genes). Entre las 16 rutas destacaron aquellas relacionadas con el proceso de absorción, síntesis y catabolismo (oxidación) de los ácidos grasos o la diferenciación y maduración de los adipocitos. En particular, destacaron aquellos genes que se sobreexpresan en la variedad RR, con un mayor contenido en grasa intramuscular y ácidos grasos monoinsaturados, como son *COX*, *ACA* y *SBHD*, que participan en las rutas del metabolismo de los lípidos; y de transporte de ácidos grasos, como la familia de *CPT*, *ACAD* o *FABP*. En esta variedad también se sobreexpresaban genes cuya función es favorecer la acumulación de ácido oleico en la célula, lo que influye directamente sobre la calidad de los productos. Por otra parte, aquellos cruces con una menor GIM mostraron menor expresión de una hormona (*ADIPOQ*) y un factor de transcripción (*SREBF1*) que inhiben la adipogénesis y transporte de lípidos. La expresión de estos genes podría estar regulando el metabolismo de los lípidos, actuando como interruptor del contenido graso del cerdo Ibérico. Finalmente, también encontramos el gen de la fosfolipasa *PLA2G7* sobreexpresado en la variedad de Ibérico más grasa. La función de este gen es favorecer el transporte de ácido oleico, ácido graso muy influyente en la elevada calidad de los productos Ibéricos. Finalmente, los resultados de este trabajo evidencian genes clave y rutas metabólicas que podrían explicar las diferencias fenotípicas de la calidad de la carne y la adiposidad entre las variedades de cerdos ibéricos.

Tabla 1. Comparación de expresión diferencial de genes entre los distintos cruces Retinto (RR), Torbiscal (TT), Retinto×Torbiscal (RT) y Torbisca×Retinto (TR). Los genes se asumen diferencialmente expresados si tienen un |Fold Change| > 1.5 y un p-valor <0.1.

Nºdegenes	RRvsTT	RRvsRT	RRvsTR	RTvsTR	TTvsRT	TTvsTR
<i>Sobreexpresados</i>	883	374	1601	29	13	23
<i>No diferencialmente expresados</i>	14685	15499	12690	16203	16200	16208
<i>Infraexpresados</i>	684	379	1961	20	39	21

Referencias

Chen, Y., McCarthy, D., Ritchie, M., Robinson, M. and Amith, G. (2008). *edgeR: differential expression analysis of digital gene expression data*. [ebook] Available at: <http://bioconductor.org/packages/release/bioc/vignettes/edgeR/inst/doc/edgeRUsersGuide.pdf>.

Dobin, A. (2014). *Star Manual 2.4.0.1*. [ebook] Available at: <http://labshare.cshl.edu/shares/gingeraslab/www-data/dobin/STAR/STAR.posix/doc/STARmanual.pdf> [Accessed 2 May 2018].

Ibáñez-Escriche, N., Magallón, E., Gonzalez, E., Tejeda, J. and Noguera, J. (2016). Genetic parameters and crossbreeding effects of fat deposition and fatty acid profiles in Iberian pig lines1. *Journal of Animal Science*, 94(1), pp.28-37.

Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK (2010). “edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data.” *Bioinformatics*, 26(1), 139-140.