



## Expresión genética en *Longissimus dorsi* e hígado en dos etapas del crecimiento en cerdos\*

### Gene expression in *Longissimus dorsi* and liver in two stages of growth in pigs

Clemente Lemus-Flores<sup>1</sup>, Job Oswaldo Bugarín-Prado<sup>2</sup>, Gilberto Lemus-Avalos<sup>2</sup>, Henry Loeza-Concha<sup>3</sup>

\* Recepción: 29 de noviembre, 2023. Aceptación: 6 de mayo, 2024. Este trabajo formó parte del proyecto número SIP15-65 “Uso del aguacate de desecho en la manipulación de la calidad y composición de la carne de cerdos y ovinos para producir alimentos funcionales con estabilidad oxidativa”. Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, Nayarit, México.

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Compostela, Nayarit, México. [clemus@uan.edu.mx](mailto:clemus@uan.edu.mx) (<https://orcid.org/0000-0002-5120-6805>).

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Agricultura. Xalisco, Nayarit, México. [Job.bugarin@uan.edu.mx](mailto:Job.bugarin@uan.edu.mx) (autor para la correspondencia; <https://orcid.org/0000-0001-6280-8281>); [lemus.ag91@gmail.com](mailto:lemus.ag91@gmail.com) (<https://orcid.org/0000-0003-2451-1940>).

<sup>3</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Campeche, Sihochac, Champotón, Campeche. [loeza.jesus@colpo.mx](mailto:loeza.jesus@colpo.mx) (<https://orcid.org/0000-0001-7686-5113>).

## Resumen

**Introducción.** La expresión genética varía en relación con la etapa fisiológica del cerdo y es diferente en músculo e hígado. **Objetivo.** Identificar los genes con expresión genética diferencial en los procesos biológicos del cerdo en los tejidos *Longissimus dorsi* e hígado, por medio del análisis de transcriptoma, durante la etapa de crecimiento ( $55 \pm 1,05$  kg) y la engorda final ( $101 \pm 7,8$  kg). **Materiales y métodos.** En la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, México, durante el verano del 2019. Se consideraron doce muestras totales, tres de músculo *Longissimus dorsi* y tres de hígado por etapa para la extracción de RNA y la secuenciación. Con el método DESeq2 se obtuvo diferencialmente la expresión génica de los Log2FC para Grupo Crecimiento vs Engorda Final del *Longissimus dorsi* e hígado y se identificó la función biológica de los genes con expresión genética diferencial. **Resultados.** En hígado se identificaron la mayor cantidad de genes con DEG y en el cromosoma 6 para *Longissimus dorsi* e hígado. En *Longissimus dorsi* del grupo crecimiento se expresaron los genes *FUT1*, *SESN2* y *FGF21* asociados al crecimiento, también se identificaron genes sin expresión como *NR4A3*, *PDK4*, *PER1* y *PTPRO* los cuales están involucrados en procesos del sistema inmune y ritmo circadiano. En hígado del grupo crecimiento se expresaron los genes *IHH* y *MYL7* y sin expresión *MFSD2A*, *LIPG*, *THBS1*, *TGFB2*, *LTF* y *APOA4* como los más relacionados en procesos biológicos. **Conclusiones.** En *Longissimus dorsi* del grupo crecimiento los genes se relacionaron con el crecimiento y en engorda final con inmunidad, crecimiento y calidad de la carne. En hígado del grupo crecimiento los genes fueron relacionados con el crecimiento y en el grupo engorda final con inmunidad, crecimiento, metabolismo de nutrientes y lípidos, lipoproteínas y detoxificación.

**Palabras clave:** cromosoma, transcriptoma, método DESeq2.



## Abstract

**Introduction.** It is said that genetic expression varies in relation to the physiological stage of the pig and the nutritional source, it is different in muscle and liver. **Objective.** Identify the genes that present differential genetic expression, through transcriptome analysis in *Longissimus dorsi* and liver, during growth and final fattening, differentiating them into two stages of pig fattening, growth group ( $55 \pm 1.05$  kg) and final group ( $101 \pm 7.8$ kg). **Materials and methods.** 12 total samples were considered, three from *Longissimus dorsi* muscle and three from liver per stage for RNA extraction and sequencing. With the DESeq2 method, the gene expression of the Log2FC was obtained differentially for the Growth Group vs final fattening of *Longissimus dorsi* and Liver and the biological function of the DEG genes was identified. **Results.** The largest number of genes with DEG were identified in the liver and on chromosome 6 in *Longissimus dorsi* and liver. In *Longissimus dorsi* from the growth group with high expression, the genes FUT1, SESN2 and FGF21 associated with growth and with low expression, NR4A3, PDK4, PER1 and PTPRO involved in immune system processes and circadian rhythm were identified. In the liver of the Growth Group, with high expression, the IHH and MYL7 genes were identified, and with low expression, the genes MFSD2A, LIPG, THBS1, TGFB2, LTF and APOA4 were identified as those most involved in biological processes. **Conclusions.** In *Longissimus dorsi* from the growth group the genes were related to growth and in final fattening with immunity, growth and meat quality. In the liver of the growth group the genes were related to growth and in the final fattening group with immunity, growth, nutrient and lipid metabolism, lipoproteins and detoxification.

**Keywords:** cromosome, transcriptome, DESeq2 method.

## Introducción

La interacción genotipo ambiente provoca variaciones en la expresión genética de los cerdos, esto puede generar diferencias en cada etapa fisiológica influidas por la fuente alimenticia utilizada, y es necesario conocer estas variaciones para potencializar la producción de esta especie animal (Albuquerque et al., 2020; Malgwi et al., 2022; Óvilo et al., 2014; Shang-Qiao et al., 2019; Tao et al., 2017). Con la secuenciación directa del ARN (RNA-Seq) se han identificado genes relacionados con los procesos biológicos, que han permitido comprender los mecanismos fisiológicos y el efecto que tiene sobre estos mecanismos la fuente nutricional que se emplea (Benítez et al., 2021; Muñoz et al., 2018; Núñez et al., 2021; Shang-Qiao et al., 2019).

El cerdo pasa por varias etapas fisiológicas durante su engorda, suceden cambios en su crecimiento, ocasionados por la expresión de genes, se considera importante conocer los procesos biológicos que se afectan en la engorda del cerdo, con el fin de poder identificar esos efectos y lograr mejorar la producción y que permita modular la calidad de la carne (Wang et al., 2020; Wang et al., 2017).

Es importante identificar los procesos biológicos que se afectan durante el periodo de engorda del cerdo, con el fin de poder identificar esas fases, sus efectos y así lograr una mejora en la producción para modular la calidad de la carne, un conocimiento amplio de la genética del cerdo puede permitir incluso, la selección de ingredientes a utilizar de acuerdo con cada carga genética (Malgwi et al., 2022). Por tal motivo es importante conocer la expresión genética de los cerdos durante la etapa de engorda, de acuerdo con lo anterior, el objetivo de esta investigación fue identificar los genes con expresión genética diferencial en los procesos biológicos del cerdo, en los tejidos *Longissimus dorsi* (músculo dorsal ancho) e hígado, por medio del análisis de transcriptoma durante la etapa de crecimiento y la engorda final.

## Materiales y métodos

### Localización del estudio

La parte experimental del estudio se realizó en las instalaciones de la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, en Xalisco, Nayarit, México, ubicada en el km 9,1 de la carretera Tepic-Compostela, durante la primavera-verano del año 2019 en los meses de marzo a agosto.

### Animales y dietas

Se utilizaron seis cerdos machos castrados de la raza York-Landrace, tres en la etapa de crecimiento y tres en la de engorda final, los cuales fueron distribuidos con igual número en dos grupos: 1) grupo crecimiento ( $55 \pm 1,05$  kg) y 2) grupo final ( $101 \pm 7,8$  kg). Los cerdos fueron alojados en corrales individuales con libre acceso al alimento y agua, para garantizar su cuidado y atención. La dieta para ambos grupos fue la misma (Cuadro 1), elaborada a base a maíz (*Zea mays*; L) y harina de soya (*Glycine max*; L), vitaminas y minerales, que cambió de proporciones para satisfacer las necesidades nutricionales de acuerdo con cada etapa hasta llegar a su sacrificio (National Research Council [NRC, 2019]).

**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química calculada de la dieta experimental (base seca) empleada en cerdos raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2019.

**Table 1.** Ingredients and calculated chemical composition of experimental diets (dry matter) used in York-Landrace breed pigs. Xalisco, Nayarit, México. 2019.

Ingredientes	% de inclusión	Composición química calculada	
Maíz	81,205	Mcal/kg EM	3,85
Soya	15,3	Proteína %	14,00
L-Lysina	0,125	Lisina %	0,75
Carbonato de calcio	0,82	Metionina %	0,24
Ortofosfato de calcio	0,65	Thriptofano %	0,50
Sal común	0,10	Calcio %	0,50
Vitaminas y minerales premix	0,30	Fósforo total%	0,45
Zeolita	1,50	Sodio %	0,06
Total	100,00	Cloruro %	0,11

### Análisis de transcriptoma en *Longissimus dorsi* e hígado

Para la extracción de RNA se consideraron doce muestras totales, tres de 75 mg de músculo *Longissimus dorsi* (*L. dorsi*) y tres de 75 mg de hígado para la etapa de crecimiento y el mismo número de muestras para la etapa engorda final. Inmediatamente del sacrificio de los cerdos se tomaron tres muestras de aproximadamente 0,05 g del interior del musculo *L. dorsi* e hígado para el análisis de expresión genética. Las muestras se colectaron en criotubos de 2,0 mL, con una solución estabilizadora de ácidos nucleicos DNA/RNA Shield (Zymo Research, USA

[Zymo, 2019]) sobre hielo y posteriormente se refrigeraron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . De los tejidos colectados se pesaron 75 mg y se utilizó el kit de extracción de ácidos nucleicos Direct-zol TM RNA MiniPrep (Zymo, 2019).

La extracción de RNA se efectuó con base en las instrucciones del fabricante y se cuantificó su concentración y pureza por medio de espectrofotometría con Nanodrop. Posteriormente se llevó a cabo la síntesis de cDNA con 1000 ng de RNA de cada muestra utilizando el kit Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit with dsDNase (Zymo, 2019) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La secuenciación masiva se realizó con metodología Illumina, en un dispositivo Nextseq 500, de 76 pb, a partir de doce muestras, con una calidad promedio superior a Q28 para todas las muestras en todos los ciclos.

Las secuencias obtenidas fueron mapeadas contra el genoma de referencia del cerdo Sscrofa11.1 mediante el uso del programa Smalt 0.7.6. (Sanger Institute, 2020), los recuentos por gen se llevaron a cabo en el programa Bamtools, se consideró un script en Perl para filtrar exclusivamente genes codificantes para proteínas con lectura final de 15 760 registros. Con estos registros, se realizó un análisis de expresión diferencial. El Software IDEAMEX (Jiménez-Jacinto et al., 2019) se utilizó para aplicar el método DESeq2 y obtener diferencialmente la expresión génica de los cambios de pliegue Log2 para grupo crecimiento y grupo final del músculo *L. dorsi* e hígado.

### Análisis estadístico

Para identificar la función biológica se utilizó la base de datos del **Centro Nacional de Información Biotecnológica (CNIB, 2023)**, las bases de datos del genoma publicadas por Fergal et al. (2023), las bases de análisis de enriquecimiento de ontología genética (Aleksander et al., 2023; Ge et al., 2020). Se consideraron valores de  $p \leq 0,01$  con  $\geq 2$  cambios de pliegue Log2 (Log2FC), se identificaron los genes con expresión génica diferencial (DEG), se comparó el tejido del grupo de crecimiento y el del grupo final, así como la comparación entre tejidos del músculo *L. dorsi* e hígado para cada grupo, también, se identificaron por cromosoma los genes con DEG extrema fuera del rango de intervalo de confianza para expresiones de genes con expresión (UP) y sin expresión (Down), entre los grupos y tejidos con diferencia estadística identificadas con el método DESeq2 (Love et al., 2014).

## Resultados

De acuerdo con los resultados obtenidos en la comparación entre grupos y tipo de tejido (Cuadro 2), en hígado se identificaron la mayor cantidad de genes con DEG con 81 genes para grupo de crecimiento (GC) y 286 para

**Cuadro 2.** Número de genes identificados y sus valores para los cambios de pliegue Log2 globales y comparativos entre grupos para cada tejido en *Longissimus dorsi* e hígado en cerdos de la raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

**Table 2.** Number of genes identified and their values for global and comparative Log2 fold changes between groups for each tissue in *Longissimus dorsi* and liver in York-Landrace pigs. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

Tejido	P<mínimo	P< máximo	Log2FC mínimo	Log2FC máximo	Genes UP GC y DOWN GF	Log2FC medio	Genes DOWN GC y UP GF	Log2FC medio
LD	$1,85 \times 10^{44}$	0,01	-5,68	4,29	35	2,65	25	-2,84
Hi	$1,52 \times 10^{51}$	0,01	-6,93	6,78	81	2,64	286	-2,67

Log2FC- Log2 cambio de pliegue Log2, P<- valores de probabilidad, UP- expresión, DOWN- sin expresión, GC- grupo crecimiento ( $55 \pm 1,05$  kg), GF- grupo final ( $101 \pm 7,8$  kg), LD- *L. dorsi*, Hi- hígado. / Log2FC- Log2 fold change, P<- probability values, UP- expression, DOWN- non-expression, GC- growth group ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- final group ( $101 \pm 7.8$  kg), LD- *L. dorsi*, Hi- liver.

grupo final (GF). Los genes con expresión se apreciaron en el tejido *L. dorsi* del GC con 35 genes y 25 genes sin expresión para GC en el tejido *L. dorsi*. En el hígado sucede lo contrario, la mayor cantidad de genes (286) con expresión fue en GF y en GC fueron 25 genes los que no se expresaron. Se apreció (Cuadro 3) que la mayor cantidad de genes sin expresión fue en el tejido hígado con 2175 genes en el GC y 2646 para el GF, estos mismos genes fueron los que no mostraron expresión en el tejido *L. dorsi*. También existieron 1913 genes del GC sin expresión en el tejido hígado y 1660 genes del GF que se expresaron en el tejido *L. dorsi*.

**Cuadro 3.** Número de genes identificados y sus valores para los cambios de pliegue Log2 globales y comparativos entre tejidos para el grupo crecimiento ( $55 \pm 1,05$  kg) y el grupo final ( $101 \pm 7,8$  kg), en cerdos de la raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

**Table 3.** Number of genes identified and their values for global and comparative Log2 fold changes between tissues for the growth group ( $55 \pm 1.05$  kg) and the final group ( $101 \pm 7.8$  kg), in pigs of the York-Landrace breed. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

Grupo	P<Mínimo	P<Máximo	Log2FC mínimo	Log2FC máximo	Genes UP Hi y DOWN LD	Log2FC medio	Genes DOWN Hi y UP LD	Log2FC medio
GC	2,43E-303	0,01	-15,93	15,01	2175	4,75	1913	-4,24
GF	5,32E-305	0,01	-17,11	17,47	2646	4,62	1660	-4,35

Log2FC- cambio de pliegue Log2, P<- valores de probabilidad, UP- expresión, DOWN- sin expresión, Hi- hígado, LD- *L. dorsi*, GC- grupo crecimiento ( $55 \pm 1,05$  kg), GF- grupo final ( $101 \pm 7,8$  kg). / Log2FC- Log2 fold change, P<- probability values, UP- expression, DOWN- non-expression, Hi- liver, LD- *L. dorsi*, GC- growth group ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- final group ( $101 \pm 7.8$  kg).

En el cromosoma 6 al realizar la comparación de la expresión genética diferencial de los tejidos hígado contra *L. dorsi* se apreció que en los dos grupos GC y GF existió el mayor número de genes con expresión (205 y 258, respectivamente). En el cromosoma 2 ocurrió algo similar a lo descrito en el cromosoma 6, para el cromosoma 1, la mayor cantidad de genes con expresión genética diferencial baja fue en el tejido hígado, tanto para el GC como para el GF, con 183 y 157 genes, respectivamente (Cuadro 4).

Los genes con expresión genética diferencial extremos y mayores cambios de pliegue Log2 en *L. dorsi* e hígado se aprecian en el Cuadro 5. Se identificaron con expresión los genes *FUT1*, *SESN2* y *FGF21* en el tejido *L. dorsi* para el grupo crecimiento. Pero también se identifican genes con expresión en *L. dorsi* para el GC relacionados con detoxificación *GPX2*, *MT4* y *SESN2*. En el tejido *L. dorsi* para el grupo crecimiento, se identifican los genes *NR4A3*, *PDK4*, *PER1* y *PTPRO* los cuales están involucrados en funciones biológicas como procesos del sistema inmune y ritmo circadiano. Sin embargo, en los cerdos del GC no se identificaron genes con expresión que pudieran estar involucrados con las siguientes funciones biológicas: respuesta al estrés, sistema inmune, locomoción, regulación de lipoproteínas, ritmo circadiano, comportamiento y detoxificación. Se pudieron identificar a los genes *IHH* y *MYL7* como los más involucrados en funciones biológicas con expresión en GC vs GF.

En hígado (Cuadro 6) se apreció una mayor expresión genética diferencial extrema y también mayores cambios de pliegue Log2, mientras que para el GC no hubo expresión. En este sentido cuando en hígado del GC no hubo expresión por consiguiente, sí hubo expresión en GF, se identificaron los genes *MFSD2A*, *LIPG*, *THBS1*, *TGFB2*, *LTF* y *APOA4* como los más involucrados en procesos biológicos.

**Cuadro 4.** Cantidad de genes por cromosoma con expresión genética diferencial para cada tejido en *Longissimus dorsi* e hígado en cerdos de la raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

**Table 4.** Number of genes per chromosome with differential genetic for each tissue in *Longissimus dorsi* and liver in York-Landrace pigs. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

Chr	UP GC-LD	DOWN GC-LD	UP GC-Hi	DOWN GC-Hi	UP GC-Hi-LD	DOWN GC-Hi-LD	UP GF-Hi-LD	DOWN GF-Hi-LD
1	3	1	2	20	137	<b>183</b>	159	<b>157</b>
2	2	0	10	19	<b>207</b>	131	<b>244</b>	115
3	0	2	1	18	131	113	164	88
4	0	1	3	<b>28</b>	103	104	135	101
5	1	2	5	17	120	89	144	69
6	<b>11</b>	0	<b>14</b>	<b>19</b>	<b>205</b>	145	<b>258</b>	128
7	2	0	2	14	135	93	160	87
8	0	0	2	16	74	58	105	61
9	1	<b>7</b>	4	17	108	96	137	82
10	1	1	2	4	44	41	44	34
11	0	1	0	5	24	42	29	36
12	2	1	4	14	135	80	176	71
13	0	0	4	16	129	146	154	130
14	0	2	3	11	139	105	152	93
15	1	0	3	9	74	90	84	77
16	0	1	1	7	26	35	36	29
17	1	0	1	7	38	40	57	34
18	2	4	3	3	41	50	50	38
X	1	0	2	7	3	75	54	6
Y	0	0	0	0	0	5	5	3
MIT	1	0	0	0	0	0	0	0
SI	6	2	15	35	302	192	299	221

Chr- cromosoma, UP- expresión, DOWN- sin expresión, Hi- hígado, LD- *L. dorsi*, GC- grupo crecimiento ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- grupo final ( $101 \pm 7.8$  kg), MIT- mitocondria, SI- sin información. / Chr- chromosome, UP- expression, DOWN- non-expression, Hi- liver, LD- *L. dorsi*, GC- growth group ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- final group ( $101 \pm 7.8$  kg), MIT- mitochondria, SI- No information.

**Cuadro 5.** Genes con mayores cambios de pliegue Log2 extremo ( $p < 0.01$ ) en el tejido *L. dorsi* en cerdos de la raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

**Table 5.** Genes with greater extreme Log2 fold changes ( $p < 0.01$ ) in *L. dorsi* tissue in York-Landrace pigs. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

Log2FC	Ch	Genes GC vs GF LD
UP en GC		2,5 a 4,3
	1	<i>THBS2, CHAC1, PSAT1</i>
	6	<i>MT4, GPT2, FUT1, FGF21, SESN2</i>
	7	<i>GPX2</i>
	15	<i>RPRM</i>
	18	<i>PRRT4, CRHR2</i>
	X	<i>KCNE5</i>
DOWN en GC		-3,2 a -5,7
	1	<i>NR4A3</i>
	5	<i>PTPRO</i>
	9	<i>ASB4, PDK4</i>
	12	<i>PER1</i>
	16	<i>NPR3</i>

Log2FC- cambio de pliegue Log2, UP- expresión, DOWN- sin expresión, LD- *L. dorsi*, Ch- cromosoma, GC- Grupo crecimiento ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- Grupo final. / Log2FC- Log2 fold change, UP- expression, DOWN- non-expression, LD- *L. dorsi*, Ch- chromosome, GC- growth group ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- final group ( $101 \pm 7.8$  kg).

**Cuadro 6.** Genes con mayores cambios de pliegue Log2 extremo ( $p < 0.01$ ) en el tejido hígado en cerdos de la raza York-Landrace. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

**Table 6.** Genes with greater extreme Log2 fold changes ( $p < 0.01$ ) in liver tissue in York-Landrace pigs. Xalisco, Nayarit, México. 2021.

	Ch	Genes GC vs GF Hi	
Log2FC			2,8 a 6,8
UP en GC	2	<i>ABCC8, ANGPTL8</i>	
	4	<i>CA3</i>	
	7	<i>CYP1A1</i>	
	9	<i>KLHDC8A, THRSF</i>	
	10	<i>PFKFB3</i>	
	12	<i>PYY</i>	
	13	<i>CBR1</i>	
	14	<i>PPP1R3C</i>	
	15	<i>IHH</i>	
	18	<i>MYL7</i>	
Log2FC			-2,6 a -6,9
DOWN en GC	1	<i>ABRACL, ALDH1A2, C1H15orf48, LGALS3, LIPG, MRAP2, MYMK, THBS1</i>	
	2	<i>ANO3, MCEMP1, MISF, MZB1, SAA2, SLC43A1</i>	
	3	<i>GNLY, IL1R2, KIAA1211L, SERPINE1, SLC8A1</i>	
	4	<i>DENND2D, FABP5, FCRL5, GF11, FCRL3, LY96, S100A12, S100A8, S100A9, SELL, SLA, THBS3, TMIGD3</i>	
	5	<i>CLEC2B, LYZ, RASSF9, SLC38A2</i>	
	6	<i>CSF3R, MT1A, MFS2A, MT1D, ZNF683</i>	
	7	<i>CRABP1, FKBP5, RCAN2, SLA-DOA</i>	
	8	<i>ARAP2, CXCL9, DDIT4L, JCHAIN, NOCT, TMEM154</i>	
	9	<i>APOA4, CD3G, IL24</i>	
	10	<i>CCL19, TGFB2</i>	
	11	<i>ACOD1, GPR18</i>	
	12	<i>ALOX15, CCL5, EVI2A, RASD1</i>	
	13	<i>LTF, MUC13, PPP2R3A, SIK1</i>	
	14	<i>ADAM28, ANXA8, PLPP4, RASAL1, SLC5A4</i>	
	15	<i>B3GALT1, CXCR4, FKBP7, FRZB</i>	
	16	<i>GZMK, HAVCR2</i>	
	17	<i>GPCPD1, TGM3</i>	
	18	<i>IGFBP1, UPP1</i>	
	X	<i>P2RY10, SLC38A5, TMSB15B</i>	

Log2FC- cambio de pliegue Log2, UP- expresión, DOWN- sin expresión, HI- hígado, Ch- cromosoma, GC- Grupo crecimiento ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- grupo final ( $101 \pm 7.8$  kg). / Log2FC- Log2 fold change, UP- expression, DOWN- non-expression, HI- hígado, Ch- chromosome, GC- growth group ( $55 \pm 1.05$  kg), GF- final group ( $101 \pm 7.8$  kg).

## Discusión

Se ha señalado en la literatura que el músculo *L. dorsi* tiene una mayor expresión de genes lipogénicos, lo cual es muy importante para la modulación de la grasa intramuscular, sin embargo, también se reconoce que el hígado tiene una mayor función biológica y en general, una mayor expresión de genes, por lo que resulta un órgano muy



importante en todos los procesos metabólicos durante la vida del cerdo (Muñoz et al., 2021). Otros estudios han demostrado resultados similares donde se reconoce que existe una mayor expresión de genes en el hígado, también mencionan que este órgano es el más sensible al cambio durante las diferentes etapas de desarrollo del cerdo y que es también muy influido por las diferentes fuentes alimenticias utilizadas durante el proceso de producción (Benítez et al., 2015; Muñoz et al., 2021).

Dentro de los genes con expresión para el GC en *L. dorsi*, se identificó al gen *FUT1* que es importante en la glucosilación intestinal y juega un rol importante en la salud digestiva del cerdo según lo reportado por Hesselager et al. (2016), donde ellos sugieren que la activación de este gen podría ayudar a mejorar la salud intestinal de los cerdos, lo cual juega un rol importante en la producción animal pues pudiera dar cierta resistencia a los cerdos contra algunos patógenos como: *Escherichia coli*, el cual tiene una presencia significativa en esta especie, si pudiera lograrse una mejora en la salud y por consecuencia, también en la producción en general, sería muy importante, estos mismos autores mencionaron que otra alternativa puede ser la cría selectiva de animales que presenten una alta expresión del gen *FUT1* y de esta forma el efecto sería mayor.

El gen *SESN2* también está asociado a la calidad de la carne y a la regulación de la grasa intramuscular (Puig-Oliveras et al., 2016; Wang et al., 2015). Por su parte, el gen *FGF21* se asocia al crecimiento, pero también se ha reportado que es un supresor de la adipogénesis en células grasas intramusculares (Wang et al., 2015). Otros autores como Wang et al. (2017), señalan que después de 120 días de edad hay una mayor acumulación de grasa, por lo que en el músculo *L. dorsi* del GC fue mayor la expresión de genes involucrados en el crecimiento, coincidiendo con lo antes mencionado, la edad de los cerdos que se utilizaron en este trabajo estaba dentro del rango y sí se apreció una mayor expresión de genes.

Los genes sin expresión para el GC en el músculo *L. dorsi* y por lo tanto, con expresión en GF fueron, *NR4A3*, *PKD4*, *PER1* y *PTPRO*, el primero se involucra en la respuesta inflamatoria y presenta expresión en cerdos con mucha grasa intramuscular (Wang et al., 2021), este mismo gen tiene mucha similitud con el gen *PKD4* que se asocia a la grasa intramuscular y a la calidad de la carne, por su parte el *PER1* participa en la regulación del ciclo de alimentación, lo que permite la ingesta de comida en los periodos más convenientes para su metabolismo, regula el ciclo del sueño, además, de influir en la actividad locomotora y en el comportamiento (Figuereido Cardoso et al., 2017), por su parte el *PTPRO* es un gen receptor de la tirosina fosfatasa que se involucra además de procesos del sistema inmune, en el desarrollo de la estructura anatómica y morfogénesis (Cuadro 5). Con la expresión de los genes identificados en el músculo *L. dorsi*, se puede diferenciar, que en el GC suceden procesos biológicos más relacionados con el crecimiento y que en el GF los cambios están más relacionados con la inmunidad, el crecimiento y la calidad de la carne.

El gen *IHH* se identificó con expresión en hígado (Cuadro 6), este gen codifica para proteínas de la familia Hedgehog, moléculas esenciales de señalización que regulan una variedad de procesos asociados con el desarrollo, incluidos el crecimiento y la morfogénesis (The Human Gene Database [THGD], 2023). Para el gen *MYL7*, se conoce como un codificador de proteínas, también se reporta que entre sus vías relacionadas se encuentran la respuesta inmune, la remodelación del citoesqueleto, así como la regulación del citoesqueleto de actina por Rho GTPasas (THGD, 2023), el cual funciona de manera específica para el músculo y en su etapa de diferenciación, por otra parte, su baja expresión se asocia a distrofia muscular, miocardiopatías entre otros problemas (Tamiyakul et al., 2020), por lo tanto, la expresión de estos genes puede representar una mejor respuesta productiva e inmune.

En el hígado y sin expresión en el GC, se identificó al gen *MFSD2A*, el cual está involucrado en el metabolismo de nutrientes y se localiza en el cromosoma 6, regularmente es asociado al crecimiento con alta frecuencia genética en la raza Duroc (Lemus-Flores et al., 2020). También existen reportes de que este gen está relacionado en el transporte de moléculas, en el metabolismo de los lípidos y en la homeostasis (Wong et al., 2022; Zhang et al., 2019). Por su parte, el gen *LIPG* actúa en el metabolismo de lípidos en el músculo *L. dorsi* (Tao et al., 2017). En este sentido, el gen *THBS1* está asociado a glicoproteínas y formación de heparina, la coagulación de la sangre,



en la formación de vasos sanguíneos nuevos y si existen alteraciones negativas puede incluso verse ligado con una alteración en la proliferación celular, al igual que *TGFB2* están presentes en la morfogénesis y formación de la estructura anatómica (THGD, 2023; The Human Protein Atlas, 2023). Los genes *TGFB2* y *LTF* se asocian con la respuesta inflamatoria, también *APOA4* se relaciona con la detoxificación, en la modulación de glucosa, en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas (Wilkinson et al., 2010; Wong et al., 2022).

## Conclusiones

Al comparar los cerdos en etapa de crecimiento con los de etapa de finalización en cuanto a la expresión genética, el primer grupo expresó genes relacionados con el crecimiento, mientras que el segundo grupo presentó expresión de genes relacionados con inmunidad, crecimiento, metabolismo de nutrientes y lípidos, lipoproteínas y detoxificación. Estas diferencias fueron consistentes sin importar el tipo de tejido analizado.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por financiar del fondo I0002, convocatoria PDCPN 2014-1, el proyecto: “Uso del aguacate de desecho en la manipulación de la calidad y composición de la carne de cerdos y ovinos para producir alimentos funcionales con estabilidad oxidativa”.

## Conflicto de interés

El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de todos los autores, quienes declaran que no existe ningún conflicto de intereses que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

## Referencias

- Albuquerque, A., Óvilo, C., Núñez, Y., Benítez, R., López-García, A., García, F., Félix, M. R., Laranjo, M., Charmeca, R., & Martins, J. M. (2020). Comparative transcriptomic analysis of subcutaneous adipose tissue from local pig breeds. *Genes*, *11*(4), Article 422. <https://doi.org/10.3390/genes11040422>
- Aleksander, S. A., Balhoff, J., Carbone, S., Cereza, J. M., Drabkin, H. J., Ebert, D., Feuermann, M., Gaudet, P., Harris, N. L., Hill, D. P., Lee, R., Mi, H., Moxón, S., Mungall, C., Muruganugan, A., Mushayahama, T., Sternberg, P., Thomas, P., Van Auken, K., ... Westerfield, M. (2023). The gene ontology knowledgebase in 2023. *Genetics*, *224*(1), Article iyad031. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad031>
- Benítez, R., Núñez, Y., Fernández, A., Isabel, B., Fernández, A. I., Rodríguez, C., Barragán, D., Martín-Palomino, P., López-Bote, C., Silió, L., & Óvilo, C. (2015). Effects of dietary fat saturation on fatty acid composition and gene transcription in different tissues of Iberian pigs. *Meat Science*, *102*, 59–68. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.12.005>
- Benítez, R., Núñez, Y., Ayuso, M., Isabel, B., Fernández-Barroso, M. A., de Mercado, E., Gómez-Izquierdo, E., García-Casco, J. M., López-Bote, C., & Óvilo, C. (2021). Changes in biceps femoris transcriptome along growth in Iberian pigs fed different energy sources and comparative analysis with Duroc breed. *Animals*, *11*, Article 3505. <https://doi.org/10.3390/ani11123505>

- Figuereido Cardoso, T., Quintanilla, R., Tibau, J., Gil, M., Marmol-Sánchez, E., González-Rodríguez, O., González-Prendes, R., & Amills, M. (2017). Nutrient supply affects the mRNA expression profile of the porcine skeletal muscle. *BMC Genomics*, *18*(1), Article 603. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3986-x>
- Fergal, J. M., Amode, M. R., Aneja, A., Austine-Orimoloye, O., Azov, A., Barnes, S., Becker, A., Bennet, R., Berry, A., Bhai, J., Kaur, B. S., Bignell, A., Boddu, S., Branco Lins, P. R., Brooks, L., Budhanuru Ramadaju, S., Charkhchi, M., Cockburn, A., Da Rin Fioreto, L.,... Flicek, P. (2023). Ensembl 2023. *Nucleic Acids Research*, *51*(1), 933–941. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac958>
- Ge, S. X., Jung, D., & Yao, R. (2020). ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants. *Bioinformatics*, *36*(8), 2628–2629. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz931>
- Hesselager, M. O., Everest-Dass, A. V., Thaysen-Andersen, M., Bendixen, E., & Packer, N.H. (2016). *FUT1* genetic variants impact protein glycosylation of porcine intestinal mucosa. *Glycobiology*, *26*(6), 607–622. <https://doi.org/10.1093/glycob/cww009>
- Jiménez-Jacinto, V., Sanchez-Flores, A., & Vega-Alvarado, L. (2019). Integrative differential expression analysis for multiple experiments (IDEAMEX): A web server tool for integrated RNA-Seq data analysis. *Frontiers in Genetics*, *11*, Article 279. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00279>
- Lemus-Flores, C., Alonso-Morales, R., Toledo-Alvarado, H., Sansor-Nah, R., Burgos-Paz, W., & Dzib-Cauich, D. (2020). Diversidad genética y estructura poblacional del cerdo negro lampiño de Yucatán usando chip SNP50. *Abanico Veterinario*, *10*, 1-12. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.10>
- Love, M. I., Huber, W., & Anders, A. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, *15*, Article 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>
- Malgwi, I. H., Halas, V., Grünvald, P., Schiavon, S., & Jócsák, I. (2022). Genes related to fat metabolism in pigs and intramuscular fat content of pork: a focus on nutrigenetics and nutrigenomics. *Animals*, *12*(2), Article 150. <https://doi.org/10.3390/ani12020150>
- Muñoz, M., García-Casco, J. M., Caraballo, C., Fernández-Barroso, M. A., Sánchez-Esquiliche, F., Gómez, F., Rodríguez, M. C., & Silió, L. (2018). Identification of candidate genes and regulatory factors underlying intramuscular fat content through Longissimus dorsi transcriptome analyses in heavy iberian pigs. *Frontiers in Genetics*, *9*, Article 608. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00608>
- Muñoz, M., Fernández-Barroso, M. A., López-García, A., Caraballo, C., Nuñez, Y., Óvilo, C., González, E., & García-Casco, J. M. (2021). Consequences of a low protein diet on the liver and Longissimus dorsi transcriptome of duroc×iberian crossbred pigs. *Animal*, *15*(12), Article 100408 <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100408>
- Núñez, Y., Radović, Č., Savić, R., García-Casco, J. M., Čandek-Potokar, M., Benítez, R., Radojković, D., Lukić, M., Gogić, M., Muñoz, M., Fontanesi, L., & Óvilo, C. (2021). Muscle transcriptome analysis reveals molecular pathways related to oxidative phosphorylation, antioxidant defense, fatness and growth in mangalitsa and moravka pigs. *Animals*, *11*, Article 844. <https://doi.org/10.3390/ani11030844>
- NRC Nutrient Requirements.** (2019, march 2). nutriente requirements os Swine. 11th Ed. National Academy Press. 2012; Washinton, DC. <https://norecopa.no/textbase/nutrient-requirements-of-swine/>

- Óvilo, C., Benítez, R., Fernández, A., Isabel, B., Núñez, Y., Fernández, A. I., Rodríguez, C., Daza, A., Silió, L., & López-Bote, C. (2014). Dietary energy source largely affects tissue fatty acid composition but has minor influence on gene transcription in iberian pigs. *Journal of Animal Science*, *92*, 939–954. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6988>
- Puig-Oliveras, A., Revilla, M., Castelló, A., Fernández, A. I., Folch, J. M., & Ballester, M. (2016). Expression-based GWAS identifies variants, gene interactions and key regulators affecting intramuscular fatty acid content and composition in porcine meat. *Scientific Reports*, *6*, Article 31803. <https://doi.org/10.1038/srep31803>
- Shang-Qiao, S., Wei-wei, M., Su-Xian, Z., Chao-Long, Z., Jin, Y., Cui-Cui, S., & Zong-Qiang, S. (2019). Transcriptome analysis of differential gene expression in the Longissimus dorsi muscle from debao and landrace pigs based on RNA-sequencing. *Bioscience Reports*, *39*(12), 1-23. <https://doi.org/10.1042/BSR20192144>
- Sanger Institute. (2020, November 21). *Pig genome. Smlt 0.7.6*. <https://www.sanger.ac.uk/data/pig-genome/>
- The Human Gene Database. (2023, October 4). *IHH Gene - Indian Hedgehog Signaling Molecule*. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=IHH>
- The Human Protein Atlas. (2023, February 2). *The open access resource for human proteins*. <https://www.proteinatlas.org/>
- Tamiyakul, H., Kemter, E., Kösters, M., Ebner, S., Blutke, A., Klymiuk, N., Flenkenthaler, F., Wolf, E., Arnold, G. J., & Fröhlich, T. (2020). Progressive proteome changes in the myocardium of a pig model for duchenne muscular dystrophy. *IScience*, *23*(9), Article 101516. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101516>
- Tao, X., Liang, Y., Yang, X., Pang, J., Zhong, Z., Chen, X., & Lu, X. (2017). Transcriptomic profiling in muscle and adipose tissue identifies genes related to growth and lipid deposition. *PLoS ONE*, *12*(9), Article e0184120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184120>
- Wang, H., Wang, J., Dan-Dan, Y., Zong-Li, I., Yong-Qing, Z., & Chen, W. (2020). Expression of lipid metabolism genes provides new insights into intramuscular fat deposition in laiwu pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, *33*(3), 390-397. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0225>
- Wang, L., Zhong-Yin, Z., Zhang, T., Zang, L., Hou, X., Yan, X., & Wang, L. (2021). *IRLnc*: a novel functional noncoding RNA contributes to intramuscular fat deposition. *BMC Genomics*, *22*, Article 95. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-07349-5>
- Wang, Q., Qi, R., Wang, J., Huang, W., Wu, Y., Huang, X., Yang, F., & Huang, J. (2017). Differential expression profile of miRNAs in porcine muscle and adipose tissue during development. *Gene*, *618*, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.04.013>
- Wang, Y., Liu, X., Hou, L., Wu, W., Zhao, S., & Xiong, Y. (2015). Fibroblast growth factor 21 suppresses adipogenesis in pig intramuscular fat cells. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(1), 11. <https://doi.org/10.3390/ijms17010011>
- Wong, B. H., Mei, D., Lin Chua, G., Galam, D. L., Wenk, M. R., Torta, F., & Silver, D. L. (2022). The lipid transporter *Mfsd2a* maintains pulmonary surfactant homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, *298*(3), 101709. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.101709>
- Zhang, J., Zhao, D., & Yi, D. (2019). Microarray analysis reveals the inhibition of intestinal expression of nutrient transporters in piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus. *Scientific Reports*, *9*, 19798. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56391-1>