

"Efecto de dietas con diferente contenido lipídico sobre calidad de carne y expresión génica en el músculo esquelético de cerdos Pampa Rocha"



Lic. Msc. María Montenegro

Área Genética, Facultad de Veterinaria-UdelaR

27 de abril de 2017

Introducción

- La **producción porcina en Uruguay** se caracteriza por la presencia de pequeños y medianos productores.
- Es importante la reducción de los costos de producción: búsqueda de una economía en la dieta ofrecida, pero sin afectar los parámetros productivos de los animales.
- **Afrechillo de arroz:** alimento alternativo que puede considerarse por su bajo costo y características nutricionales (elevada concentración de energía, cantidades adecuadas de proteína y un alto contenido de ácidos grasos insaturados).
- Por su condición de monogástricos, los cerdos depositan los ácidos grasos (AG) de la dieta tal cual fueron ingeridos.
- A través de la alimentación es posible modificar el perfil lipídico de la grasa en el tejido muscular y adiposo de los cerdos.

Introducción

- La carne debe reunir determinadas características para cumplir con los requerimientos de comerciantes y consumidores.
- En la industria porcina, enfocarse en la naturaleza de la fuente de grasa de la dieta es esencial para asegurar la producción de carne que cumpla con la calidad requerida.
- **Industrialización:** son deseables grasas de consistencia firme, color blanco y baja susceptibilidad al deterioro por oxidación (más favorable un mayor contenido de AG saturados).
- **Consumo fresco:** es necesario considerar aspectos relacionados con la salud de los consumidores. Un incremento en la cantidad de AG poliinsaturados (AGPI) en la dieta disminuye la susceptibilidad a sufrir enfermedades cardiovasculares, mientras que los AG saturados (AGS) presentan el efecto contrario.

¿Cómo analizar los posibles efectos de la dieta sobre la carne?

Parámetros asociados a calidad de carne: pH, color, terneza, pérdida de agua, contenido de grasa intramuscular, composición de ácidos grasos (AG).

Expresión génica: uno de los abordajes posibles es el estudio del transcriptoma (conjunto de moléculas de ARN que se expresan en una célula, tejido u organismo) (Fenech M. *et al.*, 2011).

Objetivo general:

Estudiar la incidencia de los tratamientos sobre la calidad de carne y expresión génica en el músculo esquelético en lechones Pampa Rocha.



Materiales y métodos:

- Localización: Unidad de Producción de Cerdos del CRS, FAgró-UdelaR (Progreso, Canelones).

- Tratamientos: dietas isoproteicas e isoenergéticas con diferente contenido lipídico:

T0: dieta con 0 % de afrechillo de arroz (control)

T15: dieta con 15 % de afrechillo de arroz (dieta con mayor contenido lipídico).

- N = 16 cerdos Pampa Rocha desde el destete (42 días) y hasta los 77 días de edad (peso promedio: 14.85 ± 1.93 Kg).

- La experiencia se llevó a cabo en boxes, en un sistema de cama profunda (paja de trigo de 50 cm de profundidad).



- Al finalizar el ensayo los machos (N=12) fueron sacrificados (peso promedio: 32.53 ± 3.66 Kg). Remoción del músculo *Longissimus dorsi* (LD): toma de medidas y almacenamiento de muestras.

Materiales y métodos

Parámetros asociados a calidad de carne:

- pH: 45, 60, 90 min y 24 horas *post mortem*.
- Color: luminosidad (L^*), índice de rojo (a^*) e índice de amarillo (b^*).
- Terneza
- Contenido de grasa intramuscular (GIM).
- Composición de AG de la grasa intramuscular. \longrightarrow AGS, AGMI, AGPI
relaciones AGPI/AGS y n-6/n-3

N = 12

Materiales y métodos

Expresión génica:

- Extracción de ARN
- Secuenciación: RNAseq (Macrogen).
- Análisis bioinformático:
 - Control de calidad, análisis de los datos y expresión diferencial: CLC Genomics Workbench 9.5.2. (INIA Las Brujas).
 - Clasificación funcional y análisis de enriquecimiento: DAVID v 6.8 y ClueGo v 2.3.3 (Cytoscape v. 3.4.0)

N = 6

Resultados: parámetros asociados a calidad de carne

Resultados de pH, color y terneza

Parámetro	Media_T0	Media_T15	p-valor
pH45	5.86	6.01	0.58
pH60	5.71	5.38	0.12
pH90	5.89	5.13	0.02
pH24	5.51	4.91	0.01
L*	39.42	42.22	0.04
a*	11.24	12.2	0.72
b*	-6.87	-6.45	0.5
Terneza	3.57	3.42	0.87

p-valores inferiores a 0.05 indican diferencias significativas.

Resultados: parámetros asociados a calidad de carne

GIM, perfil y relaciones de AG

Parámetro	Media_T0	Media_T15	p-valor
GIM	2.12	2.31	0.66
C14:0 (ác. mirístico)	1.73	1.67	0.79
C16:1 (ác. palmitoleico)	4.38	4.06	0.28
C18:2n6 (ác. linoleico)	10.93	13.79	0.02
C18:3n3 (ác. α -linolénico)	0.7	0.87	0.32
C20:4n6 (ác. araquidónico)	1.58	1.59	0.96
Σ AGS	41.94	41.15	0.61
Σ AGMI	40.45	38.07	0.22
Σ AGPI	13.21	16.26	0.03
AGPI/AGS	0.32	0.4	0.04
n-6/n-3	19.85	19.14	0.08

p-valores inferiores a 0.05 indican diferencias significativas.

Resultados: expresión génica

- Empleando la tecnología de secuenciación de RNA (RNA-seq) se identificaron un total de **17154 transcriptos** en el músculo esquelético.
- 404 presentaron expresión diferencial (DEG) entre ambos tratamientos. De estos se analizaron 359 debido a la ausencia de información sobre los restantes.
- 170 genes resultaron sobre-expresados en T15 y 189 sub-expresados.

Resultados: expresión génica

Clasificación funcional a través del software DAVID

Para todos los DEG se identificaron 26 procesos biológicos significativos.

Términos (Categoría Procesos Biológicos)	Nº genes	p-valor
Respuesta a sustancias orgánicas	84	0.010
Desarrollo celular	62	0.035
Vías de señalización mediadas por receptores de superficie celular	77	0.025
Respuesta a estímulos endógenos	51	0.027
Respuesta a hormonas	33	0.039
Respuesta a lípidos	33	0.039
Desarrollo del tejido muscular	19	0.041
Respuesta a estímulos extracelulares	21	0.040

Resultados: expresión génica

Análisis funcional a través de la aplicación ClueGo:

Se obtuvieron 26 grupos significativos

Término (Procesos biológicos)	p-valor	Nº Genes	Cluster
Regulación homeostasis iones	14,0E-3	10,00	Sobre expresados
Señalización mediada por cAMP	30,0E-3	4,00	Sobre expresados
Regulación del transporte de calcio	33,0E-3	9,00	Sobre expresados
Transporte transmembrana de calcio	9,0E-3	13,00	Sobre expresados
Transporte citosólico de calcio	8,7E-3	9,00	Sobre expresados
Desarrollo del tejido muscular esquelético	10,0E-3	9,00	Sub expresados
Diferenciación celular del músculo esquelético	5,5E-3	7,00	Sub expresados
Regulación de la biosíntesis de carbohidratos	41,0E-3	5,00	Sub expresados
Respuesta a hexosas	3,1E-3	13,00	Sub expresados
Metabolismo de la glucosa	6,8E-3	12,00	Sub expresados
Gluconeogénesis	43,0E-3	5,00	Sub expresados
Regulación de la biosíntesis de lípidos	6,9E-3	9,00	No específico

Consideraciones finales:

Calidad de carne:

- Se registraron diferencias en los parámetros pH90, pH24, L*, AGPI y contenido de ácido linoleico.
- La inclusión de afrechillo de arroz tuvo un efecto beneficioso desde el punto de vista nutricional al aumentar los AGPI, sin embargo, la relación n-6/n3 no se encuentra dentro de los valores adecuados.

Análisis de la expresión génica:

- Se identificaron diferentes procesos biológicos y vías metabólicas, como el metabolismo de lípidos y glúcidos, desarrollo del tejido muscular y la homeostasis iónica, siendo de interés profundizar en los mismos.

Muchas gracias



Bibliografía:

- Bauzá, R. (2000). El afrechillo de arroz como alimento para cerdos y otros animales domésticos. Departamento de Publicaciones de la Facultad de Agronomía. Montevideo. Uruguay, 76p.
- Bindea G, Mlecnik B, Hackl H, Charoentong P, Tosolini M, Kirilovsky A, et al. (2009). ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics* 25:1091–3.
- Echenique A, Capra G. 2007. Caracterización de los requerimientos de calidad de carne de cerdo por parte de las industrias cárnicas porcinas en Uruguay. Fondo de Promoción de Tecnología Agropecuaria (FPTA) N° 220. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA). Montevideo, Uruguay. p31.
- Fenech M., El-Sohehy A., Cahill L., Ferguson L., French T., Shyong Tai E., Milner J., Koh W., Xie L., Zucker M., Buckley M., Cosgrove L., Lockett T., Fung K., Head R. (2011). Nutrigenetics and Nutrigenomics: Viewpoints on the Current Status and Applications in Nutrition Research and Practice. *J Nutrigenet Nutrigenomics* 4:69–89.
- Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protoc.*; 4(1):44-57.
- Folch, J.; Lees, M.; Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226:497-509.
- Ordovas J. (2006). Genetic interactions with diet influence the risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 83:443S-446S.
- Rosenvold K, Andersen HJ (2003). Factors of significance for pork quality: a review. *Meat Science* 64: 219–2370. PII: S0309-1740(02)00186-9
- Saito R, [Smoot M](#), [Ono K](#), [Ruscheinski J](#), [Wang P](#), [Lotia S](#), [Pico A](#), [Bader G](#), [Ideker T](#) (2012). A travel guide to Cytoscape plugins. [Nat Methods](#). 9(11): 1069–1076. doi: 10.1038/nmeth.2212
- Tikk K, Tikk M, Aaslyng MD, Karlsson AH, Lindahl G, Andersen HJ (2007). Significance of fat supplemented diets on pork quality – Connections between specific fatty acids and sensory attributes of pork *Meat Science* 77 (2007) 275–286. doi:10.1016/j.meatsci.2007.03.019

Financiación: La investigación que da origen a los resultados presentados en la presente publicación recibió fondos de la Agencia Nacional de Investigación e Innovación bajo el código POS_NAC_2013_1_11440 y de la Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC) a través de los programas Iniciación a la investigación y Movilidad e Intercambios académicos.

Agradecimientos: Unidad de Producción de Cerdos del Centro Regional Sur (Fagro), Ing. Agr. Juan Franco (Estación Experimental Mario Cassinoni), Ing. Agr. Pablo González (Departamento de Biometría, Estadística y Cómputo, Fagro), Dr. Ali Saadoun (Sección Fisiología y Nutrición, Fcien), Doc. Beatriz Mernies (Fvet), Departamento de Zootecnia (UFV, Brasil).