



universidad
de león



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA BASE
GENÉTICA DEL CARÁCTER EFICIENCIA
ALIMENTARIA EN EL GANADO VACUNO
UTILIZANDO ESTUDIOS DE RNA-SEQ
SYSTEMATIC REVIEW OF THE GENETIC BASIS
OF FEED EFFICIENCY TRAIT IN BEEF CATTLE
USING RNA-SEQ STUDIES**

Autor: Diego López Colino

Tutor: Aroa Suárez Vega

GRADO EN BIOTECNOLOGÍA

Julio, 2023

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	OBJETIVOS	5
3.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	6
3.1.	Revisión sistemática y selección de estudios	7
3.2.	Identificación de los genes compartidos.....	8
3.3.	Análisis de enriquecimiento funcional	8
4.	RESULTADOS	9
4.1.	Estudios identificados mediante la revisión sistemática y genes candidatos funcionales para el carácter eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne	9
4.2.	Términos de ontología génica y rutas biológicas asociadas al carácter eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne.....	13
5.	DISCUSIÓN	16
6.	CONCLUSIONES	25
7.	REFERENCIAS.....	26

Resumen / Abstract

El presente trabajo se enfoca en conocer la base genética de la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne, considerando su importancia para reducir los costes de nutrición en el sector ganadero, y mitigar el impacto ambiental de la producción animal. La metodología de RNA-Seq ha demostrado ser eficaz para investigar la biología subyacente a este carácter. Sin embargo, los estudios previos en este campo son heterogéneos, dificultando la identificación de genes y rutas metabólicas clave para este fenotipo. Los objetivos de este trabajo son (1) realizar una revisión sistemática de los estudios publicados sobre eficiencia alimentaria en vacuno de carne utilizando RNA-Seq, y (2) contribuir al conocimiento científico integrando los resultados publicados, e identificando genes y procesos biológicos relevantes asociados a este carácter. Como resultado de la revisión sistemática, se identificaron un total de 12 estudios, y 203 candidatos funcionales asociados al carácter eficiencia alimentaria. Entre ellos, los genes *MAPK1* y *TUBA4A* pueden considerarse clave para la eficiencia alimentaria en vacuno de carne, ya que fueron identificados como diferencialmente expresados en cuatro de los artículos revisados. El análisis de enriquecimiento funcional utilizando los 203 genes candidatos, sugieren que la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno está asociada con la organización celular, la respuesta a estímulos internos y la regulación de la migración celular, así como con componentes celulares específicos, como los lisosomas y los ribosomas, y vías metabólicas, como la activación y agregación de plaquetas.

Palabras clave: *Bos Taurus*, Producción de carne, RNA-Seq, revisión sistemática

The present work is focused on understanding the genetic basis of feed efficiency in beef cattle, considering its importance for reducing nutrition costs and mitigating the environmental impact in livestock industry. RNA-Seq methodology has proven effective in investigating the biology underlying this trait. However, previous studies on this trait are heterogeneous, hindering the identification of crucial genes and metabolic pathways for this phenotype. The objectives of this work are (1) to perform a systematic review of published studies on feed efficiency in beef cattle using RNA-Seq, and (2) to contribute to scientific knowledge by integrating published results and identifying relevant genes and biological processes associated with this trait. As a result of the systematic review, a total of 12 studies and 203 functional candidates associated with feed efficiency trait were identified. Among them, *MAPK1* and *TUBA4A* genes can be considered key to feed efficiency in beef cattle, as they were identified as differentially expressed in four reviewed articles. Functional enrichment analyses using the 203 candidate genes suggested that feed efficiency in beef cattle is associated with the cellular organization, response to internal stimuli, and regulation of cell migration, as well as with specific cellular components, such as lysosomes and ribosomes, and metabolic pathways, such as platelet activation and aggregation.

Keywords: *Bos Taurus*, beef, RNA-Seq, systematic review.

1. INTRODUCCIÓN

Nuestro planeta está siendo sometido a importantes cambios ambientales provocados mayoritariamente por un rápido incremento en la población humana y por la intensificación en la actividad agrícola y ganadera asociada a este incremento (Destoumieux-Garzón *et al.*, 2021). Estos cambios tienen un importante impacto sobre la biodiversidad, y repercuten en la disponibilidad de los recursos ambientales, así como en la transmisión de patógenos emergentes (Keesing *et al.*, 2010).

Para aumentar la producción ganadera y satisfacer la creciente demanda de alimentos, reduciendo al mismo tiempo el impacto ambiental, debemos esforzarnos por conseguir sistemas más eficientes. Mejorar la selección de caracteres productivos, como la eficiencia alimentaria, puede lograr beneficios tanto económicos, como medioambientales para el sector ganadero. En la actualidad, uno de los principales retos de la industria de vacuno de carne son los elevados costes de alimentación, que pueden representar aproximadamente el 70% de los costes totales de producción (Steinfeld *et al.*, 2006). Debido a ello, la presión de selección para la eficiencia alimentaria ha ido en aumento. La mejora de la eficiencia alimentaria puede reducir el índice de conversión y los gastos de producción, lo que se traduce en beneficios económicos para el sector. Además, se espera que el ganado con una mayor eficiencia alimentaria utilice la energía de forma más eficaz, lo que puede reducir la producción de metano y las emisiones de gases de efecto invernadero (Manzanilla-Pech *et al.*, 2022). Por lo tanto, la selección de animales más eficientes permitiría mantener un alto nivel de producción utilizando menos alimentos y emitiendo menos productos de desecho, para aumentar así la sostenibilidad ambiental y económica de los sistemas ganaderos (Kenny *et al.*, 2018). Con el fin de entender qué genes regulan la eficiencia alimentaria en el ganado, y determinar la mejor forma para seleccionar a los animales, en los últimos años se ha incrementado el número de investigaciones científicas centradas en el estudio de la base genética de este carácter productivo (Kenny *et al.*, 2018; Løvendahl *et al.*, 2018).

La eficiencia alimentaria se puede definir como la relación entre las unidades de producto generado por el animal (ej. Kg de carne) por unidad de alimento consumido (Brito *et al.*, 2020). Las investigaciones realizadas han demostrado que es un carácter poligénico complejo, sobre el que pueden influir múltiples procesos biológicos (Kenny *et al.*, 2018). Por ejemplo, la variabilidad en la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno puede deberse a la variación en los niveles de ingesta de alimento, la digestión del alimento y los costes energéticos asociados,

así como a diferencias en la absorción de nutrientes, el metabolismo, la etapa fisiológica del animal, el estado de salud, la composición microbiana del rumen, la actividad y la termorregulación (Herd y Arthur, 2009; Montanholi *et al.*, 2013; Lancaster *et al.*, 2014; Perkins *et al.*, 2014).

El principal inconveniente para la implementación de un esquema de selección para la eficiencia alimentaria en programas de cría y selección del ganado vacuno es el coste y la dificultad para estimar este carácter productivo (Nielsen *et al.*, 2013). Así pues, se han propuesto diferentes caracteres indicadores de la eficiencia alimentaria en los animales de producción que podrían dividirse en (1) caracteres cuyos cálculos se basan en ratios, entre los que destaca el denominado “tasa de conversión de alimento” (*feed conversion ratio* – FCR), y (2) caracteres que se basan en la estimación de valores residuales, como el “consumo residual de alimento” (*residual feed intake* – RFI). El índice FCR ha sido la medida de la eficiencia alimentaria más utilizada de forma tradicional (Berry y Crowley, 2013). En el ganado de carne se calcula como el ratio entre el peso del alimento y la ganancia de peso del animal en un determinado periodo de tiempo (Charles Bai *et al.*, 2022). Presenta una heredabilidad moderada, y dependiendo de la raza bovina estudiada puede ir desde valores de 0.06 hasta valores de 0.46. Este índice está positivamente correlacionado con el índice RFI (Arthur y Herd, 2008). Por otro lado, el índice RFI, utilizado por primera vez por Koch *et al.* (1963), es una medida de la eficiencia neta de alimentación. La variable RFI, estimada mediante un modelo de regresión, corresponde a la diferencia (residual) entre la ingesta de alimento observada y la prevista, donde la ingesta de alimento prevista se basa en las necesidades de alimentación evaluadas según el peso corporal metabólico y el nivel o la cantidad de producto resultante (Koch *et al.*, 1963). Es una manera útil de evaluar la variación en la eficiencia alimentaria, que es independiente de la tasa de crecimiento o del tamaño del animal (Exton *et al.*, 2000). Este carácter tiene una heredabilidad moderada con un valor de 0.33 (establecida en un metaanálisis por Berry y Crowley (2013)), aunque puede oscilar, según la raza, en un rango de valores desde 0.07 hasta 0.62 (Arthur y Herd, 2008). La mayoría de estudios para la estimación de los índices de eficiencia alimentaria en el ganado vacuno se han realizado en animales en crecimiento o en animales lactantes (Berry y Crowley, 2013). La duración óptima del experimento para la determinación de la tasa de crecimiento, la conversión de alimento y el consumo residual de alimento debe ser 70 días (Basarab *et al.*, 2011). Por otro lado, se ha evaluado la frecuencia a la que se debe de pesar a los animales, demostrándose que si los pesos de los animales se tomaban cada dos semanas, en lugar de cada semana, había una pérdida de precisión mínima.

Por lo que se concluyó que un experimento de 70 días con medidas de los pesos cada 2 semanas era la manera óptima de estimar los índices de eficiencia alimentaria (Archer *et al.*, 1997).

Los avances en genética molecular, en concreto las metodologías de secuenciación masiva paralela del ADN (en inglés *Whole genom sequencing* - WGS) y del ARN (del inglés *RNA sequencing* - RNA-Seq), ofrecen una oportunidad única para identificar genes y rutas biológicas asociados a caracteres productivos complejos, como la eficiencia alimentaria (Manzanilla-Pech *et al.*, 2022). En concreto, la metodología de RNA-Seq se encarga del estudio del transcriptoma, que se puede definir como el conjunto completo de todos los genes que se transcriben en una célula, tejido u organismo, en un momento específico del desarrollo o condición fisiológica (Wang *et al.*, 2009). La metodología de RNA-Seq permite caracterizar los elementos funcionales del genoma, elementos clave para comprender la base molecular de las diferentes etapas del desarrollo y el estudio de enfermedades (Wang *et al.*, 2009). Los principales objetivos de la transcriptómica son: catalogar todos los transcritos expresados en una célula o tejido, incluyendo ARNs mensajeros (ARNm), ARNs no codificantes (ARNnc) y ARNs pequeños (ARNsm); determinar la estructura transcripcional de los genes; y cuantificar los cambios en los niveles de expresión al comparar distintas condiciones biológicas (Wang *et al.*, 2009). De forma simplificada, la técnica de RNA-Seq consta de dos partes, una laboratorial y otra bioinformática. El procedimiento laboratorial más utilizado es el proporcionado por la casa comercial Illumina (Illumina Inc, CA, US). Este comienza con la extracción de ARN, seguido del enriquecimiento en ARNm o eliminación del ARN ribosomal (ARNr), síntesis del ADN complementario a las secuencias de ARN (ADNc) y preparación de una genoteca de secuenciación, en la que los ADNc a secuenciar se une a adaptadores específicos (Stark *et al.*, 2019). Después, se secuencian la genoteca con una redundancia de secuenciación que oscila entre los 10 a 30 millones de lecturas por muestra en una plataforma de secuenciación de alto rendimiento (Stark *et al.*, 2019). Una vez obtenidos los datos de secuenciación, para obtener los genes diferencialmente expresados (DEG) entre dos condiciones, se realiza el análisis bioinformático que consiste, de forma simplificada, en (1) alinear y/o ensamblar las lecturas de secuenciación frente a un genoma de referencia, (2) cuantificar las lecturas que se superponen a los genes anotados en el genoma, (3) filtrado y normalización de los recuentos, y (4) análisis de expresión diferencial para cada uno de los genes entre las condiciones evaluadas, que puede basarse en modelos paramétricos o no paramétricos (Stark *et al.*, 2019).

Hasta la fecha se han desarrollado casi 100 métodos distintos derivados del protocolo estándar de RNA-Seq desarrollado por Illumina, basados en secuenciación de lecturas cortas

(Stark *et al.*, 2019). Además, mediante el desarrollo de nuevos métodos basados en secuenciación de lecturas largas y en secuenciación directa de moléculas únicas de ARN se pueden obtener respuestas científicas a preguntas que, hasta la fecha, no tenían respuesta por secuenciación Illumina, desde dónde y cuándo ocurre la transcripción, hasta el plegamiento y las interacciones intermoleculares que gobiernan la función del ARN (Garalde *et al.*, 2018). Sin embargo, por los inconvenientes que presentan estos protocolos más avanzados (menor rendimiento, mayor tasa de error y mayor coste), la metodología propuesta por Illumina sigue siendo la más utilizada para la determinación de DEG, cuando se evalúan dos condiciones biológicas (Stark *et al.*, 2019).

Los primeros experimentos de RNA-Seq demostraron su efectividad para determinar DEG en una amplia gama de organismos y sistemas, incluidos *Zea mays* (Emrich *et al.*, 2007), *Arabidopsis thaliana* (Lister *et al.*, 2008), *Saccharomyces cerevisiae* (Nagalakshmi *et al.*, 2008), *Mus musculus* (Mortazavi *et al.*, 2008) y *Homo sapiens* (Cloonan *et al.*, 2008; Marioni *et al.*, 2008). En el caso de las especies de abasto, la disminución de los precios de secuenciación en la última década hizo que la metodología de RNA-Seq se convirtiese en una herramienta imprescindible para caracterizar los mecanismos biológicos que subyacen a fenotipos complejos, facilitando la comprensión de la regulación genética del carácter de interés, y permitiendo la identificación de potenciales biomarcadores para una predicción genética más precisa (Wickramasinghe *et al.*, 2014). En concreto, en el ganado vacuno de carne, el estudio del transcriptoma mediante la metodología de RNA-Seq ha dado lugar a reducir la complejidad a nivel genético y determinar genes clave para caracteres importantes como la calidad de carne, salud, fertilidad y eficiencia alimentaria (Wickramasinghe *et al.*, 2014; Tizioto *et al.*, 2015). Para caracteres cuyo fenotipo es difícil de medir, como la eficiencia alimentaria, encontrar genes y mutaciones que puedan favorecer la selección de los animales en los rebaños comerciales permitiría mejorar la eficiencia de la producción y la sostenibilidad del sector. Sin embargo, cada uno de estos estudios se realizan con animales de distintas poblaciones o razas, sometidos a diferentes condiciones de manejo, e incluso utilizando diferentes tejidos (Kong *et al.*, 2016; Higgins *et al.*, 2019; Lindholm-Perry *et al.*, 2022). Lo que conlleva a obtener resultados heterogéneos que no pueden aplicarse directamente a nivel global. En este sentido, las revisiones sistemáticas y los metaanálisis pueden ayudar a acotar los resultados obtenidos por diversos estudios para determinar de forma más precisa cuáles son los genes implicados en el carácter de interés. En concreto, las revisiones sistemáticas intentan recopilar datos y estudios que cumplan unos criterios de elegibilidad previamente establecidos con el fin de responder a

una cuestión de interés específica (Sargeant *et al.*, 2006). Las características clave de una revisión sistemática son: (1) determinar un conjunto de objetivos claramente predefinidos para los estudios; (2) una metodología explícita y reproducible; (3) una búsqueda sistemática que intenta identificar todos los estudios que cumplen los criterios establecidos; (4) una evaluación de la validez de los resultados de los estudios incluidos; (5) y una presentación y síntesis coherentes de los resultados y las características de los estudios utilizados (Lean *et al.*, 2009).

2. OBJETIVOS

En base todo lo expuesto anteriormente, el presente Trabajo Fin de Grado (TFG) ha tenido dos objetivos fundamentales: (1) obtener una visión general de la situación actual de la investigación sobre la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne utilizando la metodología de RNA-Seq, para lo que se ha realizado una una revisión sistemática de estudios previamente publicados, y (2) identificar genes y procesos biológicos que se encuentran claramente asociados a la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne mediante el análisis funcional de los resultados obtenidos a partir de la revisión sistemática realizada.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Los pasos seguidos para el desarrollo de este TFG se resumen de forma esquemática en la **Figura 1**.

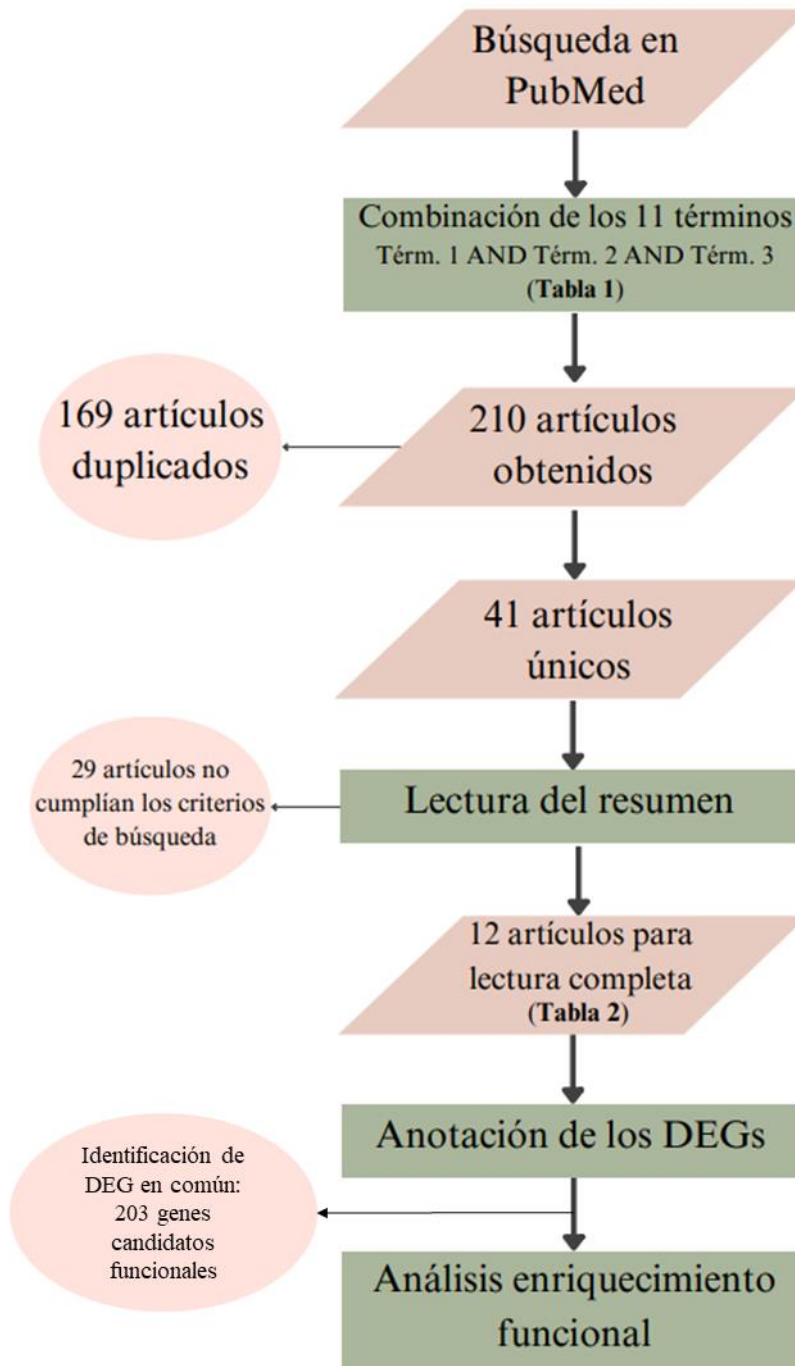


Figura 1. Flujo de trabajo que se ha seguido en el presente TFG.

3.1. Revisión Sistemática y Selección de Estudios

Los artículos utilizados en la revisión sistemática se buscaron mediante el motor de búsqueda web PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), desarrollado por *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) y perteneciente a *National Institutes of Health* (NIH). Los requerimientos de la búsqueda consistieron en una combinación de palabras clave siguiendo el siguiente criterio: el TÉRMINO 1 se corresponde con la eficiencia alimentaria y los índices utilizados para el carácter eficiencia alimentaria explicados en la introducción, el TÉRMINO 2 con términos relacionados con el ganado bovino y el TÉRMINO 3 con la metodología de RNA-Seq. Los términos utilizados para la realización de la revisión sistemática se muestran en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Términos empleados para la búsqueda sistemática. Los términos de búsqueda fueron agrupados según la temática en TÉRMINO 1 (eficiencia alimentaria), TÉRMINO 2 (ganado bovino) y TÉRMINO 3 (RNA-Seq).

TÉRMINO 1	TÉRMINO 2	TÉRMINO 3
<i>Feed efficiency</i>	<i>Cattle</i>	<i>RNA-seq</i>
<i>RFI</i>	<i>Cow</i>	<i>RNA seq</i>
<i>FCR</i>	<i>Livestock</i>	<i>RNA sequencing</i>
	<i>Beef</i>	<i>High throughput sequencing</i>

Las búsquedas se hicieron combinando cada uno de los términos de búsqueda mediante la función booleana “AND” (TÉRMINO 1 “AND” TÉRMINO 2 “AND” TÉRMINO 3). En el motor de búsqueda se seleccionó la opción “Title/Abstract”, para que mostrara aquellos artículos que presentaran todos los términos en el título o en el resumen. Se obtuvieron un total de 64 combinaciones por asociación de todos los términos para realizar la búsqueda en PubMed.

Una vez realizada la búsqueda se realizó un filtrado de los resultados. Se eliminaron aquellos artículos que aparecían repetidos. También se filtraron y se seleccionaron aquellos artículos que tuvieran relación con el objetivo de la revisión sistemática mediante la lectura de los resúmenes. En concreto, se seleccionaron aquellos que se hubieran realizado sobre ganado bovino, que estuvieran relacionados con la producción de carne, que hubieran realizado un análisis de expresión de genes mediante secuenciación de ARN, y que incluyeran genes expresados diferencialmente entre ganado de alta y baja eficiencia alimentaria. Los artículos que reunían todas las características mencionadas se seleccionaron para un paso de revisión del texto completo.

3.2. Identificación de los Genes Compartidos

Debido a que la codificación de los genes en los diferentes estudios era heterogénea, el primer paso fue convertir la identificación de todos los genes de los diferentes estudios a una única anotación. Para ello se decidió renombrar todos aquellos genes que tenían el identificador de la base de datos Ensembl con el símbolo de la base de datos HGNC (*HUGO Gene Nomenclature Committee* - <https://www.genenames.org/>), denominado “Gene name” en Ensembl (Cunningham *et al.*, 2022). Para realizar este paso, se utilizó la herramienta “Biomart” perteneciente a “Ensembl” (Cunningham *et al.*, 2022), con las siguientes opciones: Dataset = “Cow genes”, Filters = “Gene stable IDs”, Attributes = “Gene stable ID” y “Gene name”.

Con el objetivo de determinar aquellos genes más importantes en relación al carácter eficiencia alimentaria, denominados genes candidatos funcionales, el siguiente paso consistió en identificar aquellos genes que fueron identificados como DEG por más de un estudio. Para ello se utilizó la herramienta de Microsoft “Excel”. Primero se eliminaron aquellos genes duplicados dentro del mismo estudio con la función “Quitar duplicados”. Posteriormente, para determinar aquellos genes que aparecían como mínimo en dos estudios, se utilizó la función “Resaltar reglas de celdas: Duplicar valores” dentro del menú “Formato condicional”. Con esto conseguimos que las celdas de aquellos genes que aparecen identificados por más de un estudio se coloreen de rojo. A continuación, mediante la opción “Filtro” ordenamos los genes dentro de cada estudio en función del color de la celda. De esta manera podemos tener agrupados todos los genes duplicados dentro de cada estudio para poder seleccionarlos.

A continuación, se utilizó la fórmula de Excel “=CONTAR.SI(rango, criterio)” seleccionando para el rango la lista completa de los genes marcados en rojo, y en criterio el gen que se quiere contar para determinar cuáles son los genes que más se repiten entre los estudios y que, por lo tanto, serán más relevantes.

3.3. Análisis de Enriquecimiento Funcional

Tras obtener los genes candidatos funcionales, se realizaron varios análisis de enriquecimiento funcional con el propósito de identificar los procesos biológicos asociados a la eficiencia alimentaria. Para ello, se utilizó la herramienta de análisis funcional *WEB-based Gene Set Analysis Toolkit* (WebGestalt, <https://www.webgestalt.org/>) (Liao *et al.*, 2019). A través de la opción “Over-Representation Analysis” y utilizando “*Bos taurus*” como especie de interés, se realizó un análisis de enriquecimiento funcional frente a las tres bases de datos de Ontología génica (“GO-Biological Process”, “GO-Molecular Function” y “GO-Cellular

component”) y también frente la base de datos de rutas metabólicas “*Reactome*”. Para llevar a cabo estos análisis se emplearon los parámetros por defecto y seleccionando como significativos aquellos términos que tenían p-value corregido para test múltiples (FDR, del inglés *False Discovery Rate by the Benjamini-Hochberg method*) inferior a 0.05. Los resultados de los distintos análisis fueron simplificados para eliminar aquellos términos redundantes mediante la opción “*Affinity propagation*”, que agrupa los conjuntos de genes con el índice de Jaccard como medida de similitud e identifica automáticamente el término representante para cada conjunto términos similares dando prioridad al que tiene un FDR más significativo.

4. RESULTADOS

4.1. Estudios Identificados Mediante la Revisión Sistemática y Genes Candidatos Funcionales para el Carácter Eficiencia Alimentaria en el Ganado Vacuno de Carne

Tal y como se puede observar en la **Figura 1**, al realizar la revisión sistemática con los términos establecidos, se encontraron un total de 210 artículos, de los cuales 169 eran repetidos. De los 41 artículos restantes se descartaron un total de 29 por no ser de interés, al no encajar con los objetivos seleccionados para la revisión sistemática. Los motivos de descarte de los artículos fueron: estar realizados sobre la microbiota del rumen de los animales; estar enfocados en la producción de leche; estar realizados sobre ARN largo no codificante (lncRNA), ARN mitocondrial (miRNA) o ARN circular (circRNA); centrarse en la identificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP); centrarse en la búsqueda de variantes potencialmente funcionales; o realizarse sobre otras especies animales (ratones, cerdos, corderos, aves de corral o cabras). Además, se descartó el estudio de Khansefid *et al.* (2017) por no estar disponible la lista de DEG.

Finalmente se consideraron 12 artículos que encajaban con los requisitos establecidos para la búsqueda sistemática. De estos, se obtuvieron genes expresados diferencialmente entre grupos de animales con alta eficiencia alimentaria (bajo RFI) y baja eficiencia alimentaria (alto RFI). En la **Tabla 2** se incluyen los artículos considerados para la elaboración de este TFG, en ella además se resume el diseño experimental de cada uno de los estudios, el número de DEG que se obtuvo de cada uno, el número de genes expresados diferencialmente que se repite con algún otro estudio de los seleccionados y la proporción de los genes repetidos.

Entre todos los estudios se obtuvieron un total de 2490 DEG cuando se comparaban datos de RNA-Seq de animales con alta y baja eficiencia alimentaria. La media de genes

diferencialmente expresados por estudio fue de 207.5 (SD=147.89). El artículo con mayor número de genes diferencialmente expresados entre animales de alta y baja eficiencia alimentaria fue el de Weber et al. (2016), en el que se analizaron muestras de 16 animales de diferentes tejidos, en concreto hipófisis, músculo esquelético, hígado, tejido adiposo visceral y duodeno. La media de DEGs en común con otros artículos identificados por estudio fue 36.08 (SD=19.19). El artículo con el mayor número de genes en común con otros estudios también fue el de Weber et al. (2016). Sin embargo, cuando miramos el porcentaje de genes en común con otros estudios considerados en el TFG, teniendo en cuenta el número de DEG identificados por cada uno de ellos, los que mayor proporción de genes en común presentaron fueron el de Lindholm-Perry et al. (2022) (83 DEG; 45,78% de genes en común) y el de Kong et al. (2016) (122 DEGs; 39,34% de genes en común). Ambos se realizaron utilizando como muestra biológica para el estudio del transcriptoma el tejido del rumen de vacas procedentes del cruce entre las razas Angus y Hereford. Los que menor proporción de genes duplicados presentan, con valores muy parecidos, son los estudios de Yang et al. (2021) (331 DEG; 12,69% genes en común), Chen et al. (2021) (171 DEG; 12,87% en común) y Keel et al. (2018) (62 DEG; 12,90% en común). Estos estudios se realizaron sobre distintos tipos de tejidos de distintas razas. En concreto, el estudio de Yang et al. (2021) se realizó sobre tejido de duodeno de toros Qinchuan; el de Chen et al. (2021) se realizó sobre muestras de tejidos de glándula adrenal, hipotálamo, hígado, músculo esquelético e hipófisis de toros *Bos indicus*; y el de Keel et al. (2018) se realizó sobre muestras de tejido muscular *Longissimus dorsi* de novillos procedentes del proyecto USMARC de evaluación de germoplasma, en el cual se generan poblaciones que poseen un alto porcentaje de las razas más importantes de Estados Unidos, como son Angus, Beefmaster, Brahman, Brangus y Charolais, entre otras.

Del total de DEG, un total de 203 genes estaban presentes, al menos, en dos de los artículos utilizados en la revisión sistemática, y se consideran como genes candidatos funcionales. En la **Tabla 3** se muestran todos los genes mencionados con su respectivo número de repeticiones. De ellos, 23 genes estaban repetidos en tres de los trabajos considerados, y otros dos genes, en concreto el *MAPK1* y *TUBA4A*, se identificaron como DEG en cuatro de los estudios analizados en este TFG. El gen *MAPK1* se encontró en los estudios de Lindholm-Perry et al. (2022), Kong et al. (2016), de las Heras-Saldana et al. (2019) y Weber et al. (2016). El gen *TUBA4A* se encontró en los estudios de Serna-García et al. (2023), Higgins et al. (2019), Lindholm-Perry et al. (2022) y Kong et al. (2016).

Tabla 2. Resumen de los artículos considerados después de la revisión sistemática sobre el carácter eficiencia alimentaria en ganado vacuno de carne utilizando la metodología RNA-Seq.

ESTUDIO	DISEÑO EXPERIMENTAL	DEGs	DEGs EN COMÚN	% GENES EN COMÚN
Yang et al. (2021)	10 toros Qinchuan (5 H-FE y 5 L-FE) para extracción de ARN de tejido del duodeno. Tras el control de calidad y el alineamiento se escogieron 6 de los animales (3 de cada grupo) y se usaron para el análisis de DEGs.	331	42	12.69
Zhou et al. (2022)	Se usaron 8 vacas Angus (AN), 6 Charolais (CH) y 8 Kinsella Composite (KC). Análisis transcriptómico sobre tejido adiposo subcutáneo.	242	41	16.94
de Lima et al. (2020)	Se usaron 192 muestras de novillos de la raza <i>Bos indicus</i> para secuenciación de ARN de <i>Longissimus thoracis</i> .	390	58	14.87
Weber et al. (2016)	Se recolectaron muestras de hipófisis, músculo esquelético, hígado, tejido adiposo visceral y duodeno. Se partieron de 2 toros Angus, de los cuales se utilizaron 8 descendientes de cada uno para el estudio.	506	71	14.03
Higgins et al. (2019)	Estudio realizado sobre 90 vacas raza Charolais (CH) y 77 raza Holstein-Friesian (HF). Realizado en tres fases dietéticas distintas sobre tejido hepático. Solo se han tomado los datos de la parte de las vacas Charolais.	319	48	15.05
Chen et al. (2021)	Se utilizaron tejidos de glándula adrenal, hipotálamo, hígado, músculo esquelético e hipófisis de 18 toros <i>Bos indicus</i> (9 H-FE y 9 L-FE).	171	22	12.87
Keel et al. (2018)	Se utilizaron 80 novillos para RNA-seq de músculo <i>Longissimus dorsi</i> . Estos eran una mezcla de numerosas razas.	62	8	12.90
Lindholm-Perry et al. (2022)	Se utilizaron 18 vacas Hereford x Angus (9 h-FE y 9 L-FE) para un análisis transcriptómico de tejido del rumen.	83	38	45.78
Tizioto et al. (2015)	Se utilizaron 20 terneros <i>Bos indicus</i> que fueran genéticamente divergentes para el RFI para obtener muestras de hígado y realizar RNA-seq.	112	29	25.89
Serna-García et al. (2023)	Secuenciación de ARN de muestras hepáticas de 24 vacas Nellore (12 H-FE y 12 L-FE).	88	19	21.59
Kong et al. (2016)	Se utilizaron 18 vacas Angus x Hereford (9 H-FE y 9 L-FE) para analizar el transcriptoma de tejido del rumen.	122	48	39.34
de las Heras-Saldana et al. (2019)	Se utilizaron 27 toros Angus con distintos RFI para análisis de muestras hepáticas. Se usaron 25 toros L-FE y 22 H-FE para biopsias de músculo semitendinoso. Se utilizaron 25 novillos y 27 novillas para biopsia hepática y muestras sanguíneas.	64	10	15.63

Tabla 3. Listado de los genes diferencialmente expresados (*Gene Name*) que se repiten entre dos o más de los estudios de RNA-Seq considerados en este TFG sobre eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne.

SÍMBOLO	REPS*	SÍMBOLO	REPS*	SÍMBOLO	REPS*	SÍMBOLO	REPS*	SÍMBOLO	REPS*
<i>TUBA4A</i>	4	<i>ATP6AP1</i>	2	<i>FGFR3</i>	2	<i>MIER1</i>	2	<i>RPS18</i>	2
<i>MAPK1</i>	4	<i>B2M</i>	2	<i>FGG</i>	2	<i>MRC2</i>	2	<i>RRAGD</i>	2
<i>CFL1</i>	3	<i>BDH1</i>	2	<i>FKBP5</i>	2	<i>MSN</i>	2	<i>RUVBL1</i>	2
<i>COL1A1</i>	3	<i>BOLA-DQB</i>	2	<i>FNBP1L</i>	2	<i>MT1A</i>	2	<i>S100A14</i>	2
<i>DNM2</i>	3	<i>C1QA</i>	2	<i>FSTL1</i>	2	<i>MYADM</i>	2	<i>SARDH</i>	2
<i>FADS2</i>	3	<i>CA3</i>	2	<i>FSTL3</i>	2	<i>MYOM1</i>	2	<i>SENPF7</i>	2
<i>FAM13A</i>	3	<i>CCAR1</i>	2	<i>G0S2</i>	2	<i>NAT15</i>	2	<i>SH3D19</i>	2
<i>FN1</i>	3	<i>CD1E</i>	2	<i>GABARAP</i>	2	<i>NBEAL1</i>	2	<i>SH3GLB2</i>	2
<i>FOLR2</i>	3	<i>CD34</i>	2	<i>GADD45G</i>	2	<i>NKD2</i>	2	<i>SLC16A7</i>	2
<i>GPD1</i>	3	<i>CD52</i>	2	<i>GNB1</i>	2	<i>NR0B2</i>	2	<i>SLCO4A1</i>	2
<i>HSPB1</i>	3	<i>CFH</i>	2	<i>GPC3</i>	2	<i>NR1D1</i>	2	<i>SMAD1</i>	2
<i>IL1RN</i>	3	<i>CHST13</i>	2	<i>GPRC5A</i>	2	<i>NTS</i>	2	<i>SOAT2</i>	2
<i>ITM2B</i>	3	<i>CKB</i>	2	<i>GSN</i>	2	<i>OLFM1</i>	2	<i>SOST</i>	2
<i>METRNL</i>	3	<i>CL43</i>	2	<i>GSTO1</i>	2	<i>P4HA1</i>	2	<i>SPTSSB</i>	2
<i>NPC2</i>	3	<i>COL1A2</i>	2	<i>HDHD3</i>	2	<i>PARVG</i>	2	<i>SQLE</i>	2
<i>PAK1</i>	3	<i>CTGF</i>	2	<i>HGS</i>	2	<i>PCBP2</i>	2	<i>SREBF2</i>	2
<i>PII6</i>	3	<i>CTSS</i>	2	<i>HOPX</i>	2	<i>PCDH18</i>	2	<i>TAGLN2</i>	2
<i>RPS15</i>	3	<i>CTSZ</i>	2	<i>HP</i>	2	<i>PCSK5</i>	2	<i>TCIRG1</i>	2
<i>S100A11</i>	3	<i>CXCL14</i>	2	<i>HS1BP3</i>	2	<i>PDXK</i>	2	<i>TECR</i>	2
<i>SH3BGRL3</i>	3	<i>CYB5D2</i>	2	<i>HTRA3</i>	2	<i>PIEZO1</i>	2	<i>TF</i>	2
<i>SH3GL1</i>	3	<i>CYBB</i>	2	<i>IMPA1</i>	2	<i>PIPOX</i>	2	<i>TGM2</i>	2
<i>SPON2</i>	3	<i>DCN</i>	2	<i>IRF5</i>	2	<i>PLP2</i>	2	<i>THBD</i>	2
<i>TMSB10</i>	3	<i>DDAH2</i>	2	<i>ISLR</i>	2	<i>PLXND1</i>	2	<i>TLR5</i>	2
<i>TPM2</i>	3	<i>DDR2</i>	2	<i>ITGA5</i>	2	<i>PM20D1</i>	2	<i>TMEM54</i>	2
<i>VIM</i>	3	<i>DES</i>	2	<i>ITIH5</i>	2	<i>POLR3A</i>	2	<i>TMSB4</i>	2
<i>A2M</i>	2	<i>DMGDH</i>	2	<i>JCHAIN</i>	2	<i>PRUNE2</i>	2	<i>TTR</i>	2
<i>ACLY</i>	2	<i>DNAJB1</i>	2	<i>JUN</i>	2	<i>PSMB5</i>	2	<i>TUBB4B</i>	2
<i>ACOT12</i>	2	<i>EEF2</i>	2	<i>KCNT2</i>	2	<i>PSMB6</i>	2	<i>U2</i>	2
<i>ACTA2</i>	2	<i>EGLN3</i>	2	<i>LDB3</i>	2	<i>PTBP3</i>	2	<i>UACA</i>	2
<i>ACTB</i>	2	<i>EIF3H</i>	2	<i>LIMA1</i>	2	<i>PTPN12</i>	2	<i>UBA52</i>	2
<i>ADD3</i>	2	<i>EMP3</i>	2	<i>LUM</i>	2	<i>RARRES1</i>	2	<i>ULBP3</i>	2
<i>ALB</i>	2	<i>ENSBTAG00000027075</i>	2	<i>LY6G6C</i>	2	<i>REG3G</i>	2	<i>USP53</i>	2
<i>ANXA1</i>	2	<i>EPB41L3</i>	2	<i>LY9</i>	2	<i>RGS16</i>	2	<i>VASN</i>	2
<i>ANXA13</i>	2	<i>ERRF11</i>	2	<i>LYPD3</i>	2	<i>RHOG</i>	2	<i>YPEL3</i>	2
<i>APBB1IP</i>	2	<i>FABP1</i>	2	<i>MALL</i>	2	<i>RNASE4</i>	2	<i>ZDHHC3</i>	2
<i>APP</i>	2	<i>FAIM2</i>	2	<i>MAN2B1</i>	2	<i>RNASE6</i>	2	<i>ZDHHC5</i>	2
<i>ARHGAP31</i>	2	<i>FAM173A</i>	2	<i>MCM2</i>	2	<i>ROBO2</i>	2	<i>ZNF750</i>	2
<i>ASB2</i>	2	<i>FBLIM1</i>	2	<i>ME1</i>	2	<i>RPL13</i>	2	<i>ZPR1</i>	2
<i>ASCL1</i>	2	<i>FGA</i>	2	<i>MFAP5</i>	2	<i>RPL17</i>	2	<i>ZWINT</i>	2
<i>ASIP</i>	2	<i>FGF7</i>	2	<i>MFSD2A</i>	2	<i>RPL18A</i>	2		
<i>ATP2B4</i>	2	<i>FGFR1</i>	2	<i>MGAT5</i>	2	<i>RPL19</i>	2		

*Reps= número de artículos en los que el gen se ha identificado como diferencialmente expresado entre animales de alta y baja eficiencia alimentaria.

4.2. Términos de Ontología Génica y Rutas Biológicas Asociadas al Carácter Eficiencia Alimentaria en el Ganado Vacuno de Carne.

El análisis de enriquecimiento funcional realizado con WebGestalt, utilizando los 203 genes candidatos funcionales, identificó términos significativos en dos de las tres categorías de ontología génica. Además, se obtuvieron resultados significativos en el análisis realizado para las rutas biológicas utilizando la base de datos “*Reactome*”. Para la categoría de ontología génica “*GO: Biological Process*” se identificaron 10 términos enriquecidos, tras reducir la redundancia de resultados mediante la metodología “*Affinity Propagation*” se identificaron 3 términos (**Tabla 4**). Los dos más significativos por presentar un valor de FDR más bajo (0,005) fueron la organización supramolecular de fibras (19 genes) y la respuesta a estímulos endógenos (27 genes).

Tabla 4. Resultado del análisis de enriquecimiento funcional realizado con el programa WebGestalt para la base de datos “*Gene Ontology*” y la categoría “*GO: Biological Process*”.

IDENTIFICADOR DEL TÉRMINO	DESCRIPCIÓN	GENES EN EL DATASET (INPUT)	PVALUE	FDR	SÍMBOLO DE LOS GENES DEL DATASET
GO:0097435	<i>Supramolecular fiber organization</i>	19	1.78E-06	0.00515676	<i>CFL1, COL1A1, PAK1, TMSB10, TPM2, VIM, ACTA2, ADD3, APP, COL1A2, DCN, DDR2, DES, GSN, LIMA1, LUM, MFAP5, RHOG, TMSB4</i>
GO:0009719	<i>Response to endogenous stimulus</i>	27	2.32E-06	0.00515676	<i>MAPK1, COL1A1, FOLR2, GPD1, ILIRN, PAK1, VIM, ANXA1, APP, ASIP, COL1A2, CTSS, FGF7, FGFR1, FSTL3, GNB1, GPC3, JUN, MSN, NROB2, NR1D1, REG3G, RRAGD, SMAD1, SOST, TMSB4, ZPR1</i>
GO:0030335	<i>Positive regulation of cell migration</i>	13	3.23E-05	0.03613629	<i>COL1A1, FNI, PAK1, ANXA1, APP, CXCL14, DDR2, FGF7, FGFR1, JUN, MGAT5, S100A14, TMSB4</i>

Para la categoría de ontología génica “GO: *Cellular component*” se identificaron un total de 18 términos significativos (FDR<0.05). Tras reducir la redundancia de los resultados por “*Affinity Propagation*” se obtuvieron 5 términos relacionados con los componentes celulares que se detallan en la **Tabla 5**. El término más significativo de todos, por presentar un valor FDR menor (4,76E-06) es “parte de la región extracelular”, con un total de 33 genes agrupados dentro de este término.

Tabla 5. Resultado del análisis de enriquecimiento funcional realizado con el programa WebGestalt para la base de datos “*Gene Ontology*” y la categoría “GO: *Cellular component*” .

IDENTIFICADOR DEL TÉRMINO	DESCRIPCIÓN	GENES EN EL DATASET (INPUT)	PVALUE	FDR	SÍMBOLO DE LOS GENES DEL DATASET
GO:0044421	<i>Extracellular region part</i>	33	1.07E-08	4.76E-06	<i>COL1A1, FN1, IL1RN, ITM2B, METRNL, NPC2, PII6, A2M, ALB, ANXA1, APP, CKB, CL43, COL1A2, CTSS, CTSZ, DCN, FGA, FGG, FSTL3, GPC3, GSN, HP, JCHAIN, LUM, MFAP5, PM20D1, REG3G, RNASE6, SOST, TF, TMSB4, TTR</i>
GO:0005925	<i>Focal adhesion</i>	8	1.85E-05	0.00329887	<i>PAK1, ACTB, FBLIM1, GSN, ITGA5, LIMAI, MSN, PARVG</i>
GO:0044420	<i>Extracellular matrix component</i>	4	4.71E-05	0.00512733	<i>COL1A1, COL1A2, LUM, MFAP5</i>
GO:0022626	<i>Cytosolic ribosome</i>	7	2.55E-04	0.01622047	<i>RPS15, RPL13, RPL17, RPL18A, RPL19, RPS18, UBA52</i>
GO:0005764	<i>Lysosome</i>	10	9.06E-04	0.04638632	<i>NPC2, CTSS, CTSZ, CYBB, GABARAP, GPC3, HGS, MAN2B1, RNASE6, RRAGD</i>

Para la categoría de ontología génica “GO: Molecular function” no se identificaron términos significativos (FDR<0.05).

Para la categoría de rutas metabólicas “Reactome” se identificaron un total de 15 términos significativos (FDR<0.05). Tras reducir la redundancia de los resultados por “Affinity Propagation” quedaron 4 términos relacionados con rutas metabólicas de “Reactome” que se representan en la **Tabla 6**. De todos los términos, el más significativo por tener un valor de FDR menor (0.0045221) es “la activación, señalización y agregación plaquetaria”, con un total de 12 genes agrupados dentro de este término.

Tabla 6. Resultado del análisis de enriquecimiento funcional realizado con el programa WebGestalt para la base de datos “Pathway” y la categoría “Reactome”.

IDENTIFICADOR DEL TÉRMINO	DESCRIPCIÓN	GENES EN EL DATASET (INPUT)	PVALUE	FDR	SÍMBOLO DE LOS GENES DEL DATASET
R-BTA-76002	<i>Platelet activation, signaling and aggregation</i>	12	1.15E-05	0.0045221	<i>TUBA4A, COLIA1, FNI, A2M, ALB, APBB1IP, APP, COLIA2, GNB1, ISLR, RHOG, TAGLN2</i>
R-BTA-168249	<i>Innate Immune System</i>	23	5.12E-05	0.01177709	<i>FOLR2, NPC2, PAK1, ACLY, APP, B2M, CIQA, CTSS, CYBB, EEF2, FGG, GSN, JUN, MAN2B1, PDXK, PSMB5, PSMB6, REG3G, RHOG, RNASE6, TTR, TUBB4B, UBA52</i>
R-BTA-8957275	<i>Post-translational protein phosphorylation</i>	7	1.42E-04	0.02080953	<i>FNI, ALB, APP, FGG, FSTL1, FSTL3, GPC3</i>
R-BTA-76009	<i>Platelet Aggregation (Plug Formation)</i>	4	2.71E-04	0.02902471	<i>COLIA1, FNI, APBB1IP, COLIA2</i>

5. DISCUSIÓN

La caracterización de la base genética de caracteres productivos económicamente importantes para el sector ganadero es de gran utilidad, tanto para comprender la biología subyacente a estos fenotipos, como para la selección como reproductores de aquellos animales con mayor valor genético. En este sentido, en los últimos años han aumentado el número de estudios que utilizan la metodología de RNA-Seq para identificar genes y marcadores asociados a una mayor eficiencia alimentaria en numerosas especies de ganado (Boutinaud y Jammes, 2002; Toral et al., 2016; Carmelo y Kadarmideen, 2020; Xiao et al., 2021).

Si bien el coste de las tecnologías de secuenciación de nueva generación sigue disminuyendo, los estudios de RNA-Seq realizados en las especies de abasto se siguen realizando con un número reducido de muestras debido a limitaciones económicas. Esto hace que disminuya la potencia en la detección de DEG (Keel y Lindholm-Perry, 2022). En este sentido, la utilización de metodologías como las revisiones sistemáticas o los metaanálisis pueden ayudar a identificar los DEG que subyacen a fenotipos complejos, mediante la integración de resultados realizados en distintas poblaciones, o bajo diferentes condiciones ambientales.

En esta revisión sistemática, es de destacar la heterogeneidad de tejidos utilizados por los diferentes autores para determinar la eficiencia alimentaria del ganado vacuno para producción de carne. En concreto, 6 estudios utilizaron muestras de tejido hepático, 5 muestras de tejido muscular de distintas ubicaciones (principalmente *Longissimus dorsi*), 2 muestras tisulares de duodeno, 2 muestras de tejido adiposo, 2 muestras de tejido de la hipófisis, 2 muestras de tejido del rumen, 1 muestras de tejido de la glándula adrenal, 1 muestras de tejido del hipotálamo y 1 muestras sanguíneas. Además, dentro de los estudios seleccionados para el TFG, hubo 3 estudios que se realizaron sobre varios tipos de tejido (Weber *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2021; de las Heras-Saldana *et al.*, 2019). Debido a la complejidad del carácter eficiencia alimentaria, todos los tejidos seleccionados pueden considerarse como relevantes para el carácter. En concreto, el **hígado** es importante por sus funciones metabólicas (Reynolds, 1992). Este órgano participa en procesos fisiológicos, como la respuesta inmune, el metabolismo de la glucosa y el metabolismo de lípidos (Nafikov y Beitz, 2007); la biosíntesis de proteínas y funciones detoxificantes (Trefts *et al.*, 2017). Además, es el órgano encargado de repartir los nutrientes a otros órganos, tanto para producción como para mantenimiento, y es el encargado de la gluconeogénesis (Lawrence *et al.*, 2012). Se ha visto que es un órgano fundamental en el metabolismo de los xenobióticos (Björkholm *et al.*, 2009). En el caso de la eficiencia

alimentaria, estudios en el transcriptoma y proteoma del hígado han demostrado que los animales con baja eficiencia alimentaria presentan alteraciones en el metabolismo lipídico hepático y una mayor carga bacteriana, lo que conduce a un desequilibrio homeostático celular, que culmina en estrés oxidativo. Por lo tanto, estos animales presentan un mayor gasto energético para mantener la homeostasis del organismo, utilizando la energía que podría haber sido particionada para el aumento de peso corporal (Alexandre *et al.*, 2015; Fonseca *et al.*, 2019). En relación a la respuesta inmune en el hígado, se ha visto que en animales de raza Nellore y de raza Angus los animales más eficientes tienen una mayor respuesta inmune que los animales menos eficientes (Weber *et al.*, 2016; Alexandre *et al.*, 2015). Sin embargo, otro estudio señaló que los terneros más eficientes respondían menos a estímulos proinflamatorios hepáticos basándose en la expresión diferencial de genes modulados por interferones en el hígado, en concreto se observaba que los marcadores inflamatorios estaban reducidos y un incremento de la fosfatasa alcalina (Paradis *et al.*, 2015). Por otro lado, el **tejido muscular** es importante ya que la hipertrofia muscular es un carácter de interés que está relacionado con la eficiencia alimentaria. El músculo esquelético es el responsable del 25% del requerimiento de energía de mantenimiento debido a su tamaño y su rol en la producción de energía (Kelly *et al.*, 2013). Este tejido influye en el intercambio de proteínas activado mediante vías de señalización dependiendo de las condiciones fisiológicas y patológicas (Costamagna *et al.*, 2015) y en el metabolismo de las grasas, ya que la eficiencia alimentaria está directamente relacionada con el uso de energía (Herd y Arthur, 2009). Además, en estudios realizados con este tejido se identificaron elementos reguladores de la expresión génica vinculados a genes importantes asociados con el carácter eficiencia alimenticia (de las Heras-Saldana *et al.*, 2019). En cuando a la expresión de genes de respuesta inmune, los resultados que se encuentran en la literatura son controvertidos, pero en general activar los procesos inmunitarios es un proceso energéticamente costoso, que se supone que reduce la eficiencia alimentaria de los animales debido a la priorización de los nutrientes hacia los procesos relacionados con la inmunidad (Horodyska *et al.*, 2018a). El **duodeno** es importante en la eficiencia alimentaria porque es de vital importancia para la absorción de glucosa (Zhong *et al.*, 2020), grasa (Everard *et al.*, 2019), vitamina B (Wang *et al.*, 2019), calcio (Moine *et al.*, 2018), zinc (Zhong *et al.*, 2020), y hierro (Andrews, 2008). Por otro lado, el **tejido adiposo** es de importancia en el estudio de la eficiencia alimentaria porque aquellos animales que presentan peor eficiencia alimentaria son los que presentan grandes cantidades de grasa depositada de forma subcutánea (Soret *et al.*, 2016). La grasa subcutánea afecta a la calidad de la carne y, además, es el lugar prioritario para la lipogénesis (Guo *et al.*, 2017). Sin embargo, en el estudio de Zhou *et al.* (2022), el marmoleo

y el grosor de la capa de grasa subcutánea entre grupos de alta y baja eficiencia alimentaria era bastante similar, la diferencia se encontraba en los ácidos grasos que la componían. Otro de los tejidos con marcada relevancia para el estudio de la eficiencia alimentaria es el **rumen**. La mucosa ruminal interacciona directamente con el alimento, las poblaciones microbianas y los productos de las fermentaciones, y cualquier cambio que afecte a su capacidad para captar nutrientes afecta a la eficiencia alimentaria (Lindholm-Perry *et al.*, 2022). Además, este tejido es el encargado de producir ácidos grasos de cadena corta, que constituyen el 80% de los requerimientos energéticos del animal (Kong *et al.*, 2016). Se vio que en aquellos animales con una eficiencia alimentaria menor, la renovación de células de las papilas del rumen y de la mucosa era menor que en aquellos animales en los que la eficiencia alimentaria era mayor (Lindholm-Perry *et al.*, 2022). También, las diferencias en la capacidad del epitelio del rumen para absorber ácidos grasos de cadena corta podría estar asociado con la eficiencia alimentaria (Kong *et al.*, 2016). Además, se ha observado una diferencia en las poblaciones microbianas del rumen entre animales de alta y baja eficiencia alimentaria (Guan *et al.*, 2008). De hecho, el epitelio del rumen es altamente metabólico porque contiene una alta densidad de mitocondrias en el estrato de la capa basal (Graham y Simmons, 2004) y metaboliza una gran proporción de los ácidos grasos de cadena corta (Sehested *et al.*, 1999). También se han realizado estudios sobre muestras de tejido de la **glándula adrenal**, del **hipotálamo** y de la **hipófisis** o **glándula pituitaria**, ya que estos órganos pertenecen al eje hipotálamo-hipófisis-glándula adrenal, que se encarga de regular procesos como el hambre y la saciedad, la homeostasis energética e hídrica, el estrés, la respuesta inmune y las actividad física y sexual (Alexandre *et al.*, 2019). Además, Chen *et al.* (2021) demuestra que existen diferencias claras en el patrón de expresión génica en hipófisis entre animales de alta eficiencia alimentaria y baja eficiencia alimentaria, y sugieren que podría ser un buen tejido diana para estudiar este carácter. Las muestras de **sangre** se utilizaron para ver la concentración de metabolitos como ácido betahidroxibutírico (BHB), glucosa e insulina, las cuales no difirieron entre grupos de alta y baja eficiencia alimentaria. Sin embargo, sí que se observó diferencia en la concentración de urea en sangre entre las muestras procedentes de grupos de alta y baja eficiencia alimentaria, siendo mayor en aquellos de baja eficiencia (Lage *et al.*, 2020). Esto puede deberse a un mayor catabolismo de aminoácidos en aquellos animales menos eficientes. En este trabajo la mayor proporción de genes en común se encontró en los estudios de Lindholm-Perry *et al.* (2022) (83 DEG; 45,78% de genes en común) y el de Kong *et al.* (2016) que utilizaban el rumen como tejido de referencia. Por otro lado, los tejidos con menor número de DEGs fueron los de Keel *et al.* (2018) y de las Heras-Saldana *et al.* (2019) que utilizaban muestras de músculo.

En lo referente al indicador de eficiencia alimentaria, todos los estudios seleccionados utilizaron como carácter indicador el RFI, a excepción del estudio de Lima *et al.* (2020) que además del índice RFI, utilizó la ganancia diaria promedio (ADG), el consumo de materia seca (DMI), el FCR, el índice de Kleiber (KI), el peso corporal metabólico (MBW), y la tasa de crecimiento relativa (RGR). El RFI es un carácter indicador que necesita un elevado número de muestras para su estimación de forma precisa, al estimarse mediante un modelo de regresión. A este respecto, debemos mencionar la importancia del número de muestras analizadas (entre otros factores también importantes como la varianza intragrupo) para la potencia de un experimento. El número de muestras influye tanto para la estimación del RFI, como para el análisis de RNA-Seq. En concreto, en el estudio de Weber *et al.* (2016), con el mayor número de DEG, se parte de 16 toros de los que se extraen muestras de múltiples tejidos (hipófisis, músculo, hígado, tejido adiposo y duodeno). En los estudios de Higgins *et al.* (2019) y de Lima *et al.* (2020), también con un alto número de DEG, se utilizaron un gran número de ejemplares para extraer las muestras (90 y 192 respectivamente). Otro factor que influye en el número de DEG identificados por los distintos estudios es el umbral estadístico elegido en el análisis de expresión diferencial. Por ejemplo, en el estudio de Higgins *et al.* (2019) se seleccionan los genes con $FDR < 0.1$ y en el de Kong *et al.* (2016) se seleccionaron aquellos con $FDR < 0.05$, por lo que el primer estudio que tiene un umbral de significación menor tiene más DEG que el segundo (319 vs. 122 DEG).

Dentro de los 203 genes candidatos funcionales (aquellos DEG encontrados en común por más de 2 de los estudios considerados en la revisión sistemática propuesta en este TFG) cabe destacar los genes *MAPK1* y *TUBA4A*, ya que fueron identificados en 4 estudios sobre la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno utilizando RNA-Seq.

El gen *MAPK1* codifica para la proteína-quinasa 1 activada por mitógeno (MAPK1). Este se ha encontrado diferencialmente expresado en los estudios de Lindholm-Perry *et al.* (2022), Kong *et al.* (2016), de las Heras-Saldana *et al.* (2019) y Weber *et al.* (2016). Tanto el estudio de Lindholm-Perry *et al.* (2022) como el de Kong *et al.* (2016) fueron realizados sobre tejido del rumen de vacas resultantes del cruce de las razas Angus y Hereford. El estudio de las Heras-Saldana *et al.* (2019) fue realizado sobre muestras de tejido hepático, músculo y muestras sanguíneas. El estudio de Weber *et al.* (2016) se realizó sobre muestras de hipófisis, músculo esquelético, hígado, tejido adiposo visceral y duodeno de toros Angus. En relación a la eficiencia alimentaria, la expresión del gen *MAPK1* se asocia a animales con alta eficiencia alimentaria. Kong *et al.* (2016) señalan que la sobreexpresión de este gen en el grupo de alta

eficiencia alimentaria puede estar relacionado con su papel en la migración celular a través de la modulación de la adhesión intercelular y la regulación del citoesqueleto de actina. Dependiendo del contexto celular, la proteína MAPK1 interviene en distintas funciones biológicas como el crecimiento celular, la adhesión celular, la supervivencia celular y diferenciación celular a través de la regulación de la transcripción, traducción y reordenamiento del citoesqueleto, además tiene un papel fundamental en la migración celular (Huang *et al.*, 2004; Yue y López, 2020). Esto sugiere que la expresión de genes relacionados con la modulación de la fuerza de adhesión intracelular, organización del citoesqueleto y rutas de señalización de migración celular está vinculada con una mayor movilidad celular y remodelación dinámica en el epitelio de animales con mayor eficiencia. Esto puede ayudar a la creación de uniones entre células que mejoren la permeabilidad celular para la absorción de nutrientes en el intestino (Kong *et al.*, 2016). También se observó que aquellos animales con un RFI bajo tienen una mejor morfología tisular, esto implica cambios en el número, tamaño, forma, posición y expresión de genes de las células con el fin de desarrollar y mantener el tejido (Heisenberg y Bellaïche, 2013).

El otro DEG que se encontró en cuatro de los estudios considerados en la revisión sistemática realizada fue el gen **TUBA4A**. Este gen codifica para la tubulina alfa 4a. Se ha encontrado diferencialmente expresado en los estudios de Serna-García *et al.* (2023), Higgins *et al.* (2019), Lindholm-Perry *et al.* (2022) y Kong *et al.* (2016). Los estudios de Lindholm-Perry *et al.* (2022) y de Kong *et al.* (2016) fueron realizados sobre muestras de tejido del rumen de vacas cruce de las razas Angus y Hereford. Los estudios de Serna-García *et al.* (2023) y Higgins *et al.* (2019) fueron realizados sobre muestras de tejido hepático de vacas Nellore y Charolais, respectivamente. Se trata de un componente principal de los microtúbulos, que son unas estructuras cilíndricas formadas por protofilamentos lineales asociados lateralmente compuestos de heterodímeros de alfa y beta tubulinas (Drechsel y Kirschner, 1994). Los microtúbulos crecen por la adición de dímeros de GTP-tubulinas al final del microtúbulo, donde se forma una tapa estabilizadora. Debajo de esta tapa, los dímeros de tubulina están en un estado de unión a GDP, debido a la actividad GTPasa de la alfa tubulina (Drechsel y Kirschner, 1994). Se ha visto que este gen está más expresado en el epitelio del rumen de los animales más eficientes, apoyando la hipótesis de que los animales eficientes poseen una mejor organización de la matriz extracelular (Kong *et al.*, 2016). Sin embargo, Higgins *et al.* (2019) en su estudio encontraron que este gen tiene una menor expresión en el hígado para aquellos novillos con mayor eficiencia alimentaria cuando se comparan con los de menor eficiencia, en animales

alimentados con una dieta de pasto sin pastoreo (Baum y Georgiou, 2011). En el estudio de Serna-García *et al.* (2023) también se observó una expresión reducida de este gen en el hígado en los animales de alta eficiencia alimentaria. En el estudio de Lindholm-Perry *et al.* (2022) se encontró una sobreexpresión de este gen en el rumen de los animales con una eficiencia alimentaria alta. Atendiendo a los resultados de los estudios en los que aparece este gen, se puede concluir que se encuentra sobreexpresado en el rumen de ganado vacuno de alta eficiencia alimentaria, mientras que está poco expresado en el hígado de estos mismos animales.

Para identificar aquellos procesos y rutas biológicas más significativas asociadas a la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno se realizó un análisis de enriquecimiento funcional con los 203 genes candidatos funcionales utilizando las bases de datos de ontología génica, con sus tres categorías (procesos biológicos, componentes celulares y funciones moleculares), y la base de datos de rutas metabólicas *Reactome*. Dentro de la categoría procesos biológicos (*GO: Biological Process*) en el análisis de ontología génica, uno de los términos más enriquecidos fue la “organización supramolecular de fibras”. En base a la revisión bibliográfica realizada, este término concreto no ha sido encontrado artículos sobre la eficiencia alimentaria en ganado vacuno. Sin embargo, existe un estudio en pollos (Kong *et al.*, 2011) que destacan este término y su importancia sobre la ganancia de masa muscular. En este estudio se identificaron 7 genes diferencialmente expresados relacionados con el desarrollo de fibras musculares, la función muscular y la organización del citoesqueleto, que estaban menos expresados en pollos con fenotipo de alta eficiencia alimentaria en comparación con los de baja eficiencia alimentaria. Los autores hacían referencia a que probablemente las aves con baja eficiencia alimentaria tuviesen un gasto metabólico mayor para la organización y reparación de las fibras musculares asociado a daños producidos por la mayor expresión de proteínas relacionadas con el estrés (Kong *et al.*, 2011). Otro proceso biológico enriquecido fue “la respuesta a estímulos endógenos”. Paradis *et al.* (2015) reflejan en su estudio que los animales que son más eficientes responden menos a estímulos proinflamatorios en el hígado, basándose en la expresión diferencial de genes modulados por interferón en el hígado, la disminución en la expresión de marcadores inflamatorios y fosfatasa alcalina incrementada. Dentro de este proceso biológico se engloba el gen *MAPK1* que, como mencionamos anteriormente al describir los genes más repetidos entre los artículos considerados en esta revisión, actúa como represor transcripcional de genes inducidos por interferón gamma y realiza la fosforilación de proteínas en respuesta a estímulos como la insulina, que permite la entrada de la glucosa en las células para ser utilizada como fuente de energía, o el factor de crecimiento nervioso (del inglés *nerve growth factor* -

NGF). El tercer proceso biológico significativo en el análisis de enriquecimiento funcional está relacionado con la “regulación positiva de la migración celular”. Kong *et al.* (2016) encontraron genes diferencialmente expresados y sobreexpresados en el epitelio de animales con mayor eficiencia alimentaria. Estos genes estaban implicados en uniones adherentes, organización del citoesqueleto y migración celular. La regulación de la fuerza de adhesión intercelular y la regulación del citoesqueleto de actina son vitales para numerosos procesos como la migración celular, la remodelación tisular y el mantenimiento de la integridad del tejido (Baum y Georgiou, 2011). En el estudio de Kong *et al.* (2016) también se observó que una alta concentración de nutrientes provoca cambios en el epitelio del rumen como un desprendimiento extensivo de células epiteliales superficiales y una mejor migración y proliferación celular. De nuevo, el gen *MAPK1*, está relacionado con la migración celular por la modulación que ejerce con la fuerza de adhesión intercelular y el citoesqueleto de actina (Kong *et al.*, 2016). También, la proteína codificada por el gen *FGFR1* tiene una función esencial en la regulación de la proliferación, diferenciación y migración celular (de Lima *et al.*, 2020). Además, un experimento en ratones ha demostrado que el gen *FGFR1* inhibe la atrofia del músculo esquelético asociada a la suspensión de las extremidades posteriores (Eash *et al.*, 2007). En el estudio de Serna-García *et al.* (2013) se resalta también la importancia del ARN no codificante, en concreto de *MIR25*, que actúa bloqueando la citotoxicidad y el estrés oxidativo para intervenir en la respuesta al daño del ADN, la regulación del ciclo celular y la proliferación, migración y diferenciación celular. En este sentido, se podría concluir que los animales más eficientes expresan más genes que favorecen la renovación, crecimiento y proliferación celular.

Entre los términos significativamente enriquecidos para la categoría componente celular (*GO: Cellular Component*) de la base de datos de ontología génica, destacan los términos “componente de la matriz extracelular”, “lisosoma”, y “ribosoma del citosol”. En el caso de la matriz extracelular, se trata de un término relevante ya que ha sido relacionado con la eficiencia alimentaria en otras especies como cerdos (Horodyska *et al.*, 2019a), y pollos (Bottje *et al.*, 2017a) por sus funciones tanto en la adipogénesis, como en la formación de tejido muscular (Zhang *et al.*, 2021). A este respecto, como dato curioso, es interesante destacar la importancia de la matriz extracelular en la producción de carne *in vitro* y la dificultad para generar en estas condiciones una matriz que mantenga la elasticidad de los tejidos, cree puntos de adhesión para las células y regule los procesos biológicos (Ahmad *et al.*, 2021). Por otro lado, en relación al término “lisosoma”, los proteasomas y los lisosomas son los dos principales sistemas proteolíticos intracelulares en el músculo esquelético. La degradación de proteínas se asocia

generalmente a una tasa de renovación de proteínas más alta y por lo tanto a una menor eficiencia alimentaria en el ganado vacuno (Hill, 2012). En relación al término “ribosoma de citosol”, funciones biológicas relacionadas con los ribosomas han sido asociadas a animales de alta eficiencia alimentaria en pollos Broilers mediante un estudio de proteogenómica realizado en el músculo "*Pectoralis major*" (Bottje *et al.*, 2017b). Además, estudios realizados en la raza Nellore sugieren que el aumento de la expresión de los genes ribosómicos puede ser favorable para promover una mayor eficiencia alimentaria en el ganado de carne (de Lima *et al.*, 2020). La eficiencia en la traducción de genes afecta a la tasa de síntesis de proteínas, que depende directamente del número de ribosomas. En cerdos, se ha demostrado que la eficiencia de la síntesis de proteínas afecta al crecimiento muscular y se determinó que unos niveles más altos de expresión de genes ribosómicos eran beneficiosos para la eficiencia alimentaria (Horodyska *et al.*, 2018b).

Por último, en relación a las rutas metabólicas significativas en el análisis de enriquecimiento funcional, la más significativa fue “la activación, señalización y agregación de plaquetas”, otra ruta metabólica significativa en nuestro estudio y relacionada con esta fue la ruta metabólica “agregación de plaquetas, en concreto la formación de tapón” (**Figura 2**). Un estudio sobre eficiencia alimentaria en cerdos ha demostrado que tanto el número, como el volumen medio de plaquetas era significativamente más bajo en cerdos de mayor eficiencia alimentaria (Horodyska *et al.*, 2019b). En la especie bovina no existen estudios que relacionen el nivel plaquetario y la eficiencia alimentaria, pero dada la relevancia de esta ruta metabólica identificada en esta revisión, los hallazgos encontrados en la especie porcina, su bajo coste económico, y facilidad de medición en una muestra poco invasiva como la sangre, podría proponerse el recuento plaquetario como biomarcador potencial de la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno. La segunda ruta más significativa fue la relacionada con el “sistema inmune innato”. La respuesta inmune innata se corresponde con la fase aguda inicial de la respuesta inmune no específica. Está considerada metabólicamente más constante que la respuesta inmune adaptativa, y por este motivo, se ha hipotetizado que su activación puede tener efectos medibles en la eficiencia alimentaria (Rauw, 2012). En cerdos se demostró que existe una menor expresión génica de citoquinas tras una reto inflamatorio *ex vivo* con lipopolisacárido de *E.coli* en muestras de animales con mayor eficiencia alimentaria, lo que apoya la teoría de que existe un posible mecanismo de ahorro de energía en la respuesta inmunitaria innata intestinal ante un reto inflamatorio en cerdos más eficientes desde el punto de vista alimentario (Vigors *et al.*, 2016). La tercera ruta metabólica enriquecida fue la fosforilación postraduccional

de proteínas. La fosforilación de proteínas es un importante mecanismo de regulación celular, ya que muchas enzimas y receptores se activan/desactivan mediante eventos de fosforilación y desfosforilación, por medio de quinasas y fosfatasas (Ardito *et al.*, 2017). Los resultados de Serna-García *et al.* (2023) apuntan que existe una regulación negativa de fosforilación de proteínas en los animales de raza Nellore con alta eficiencia alimentaria. En este artículo, la regulación negativa de la fosforilación de proteínas se asoció con la disminución en la respuesta inmunitaria y la activación de citoquinas. Esto puede sugerir, como ya se ha comentado previamente, que la respuesta inmunitaria al ser un proceso energéticamente costoso, puede tener un impacto negativo en la eficiencia alimentaria del animal (Patience *et al.*, 2015).

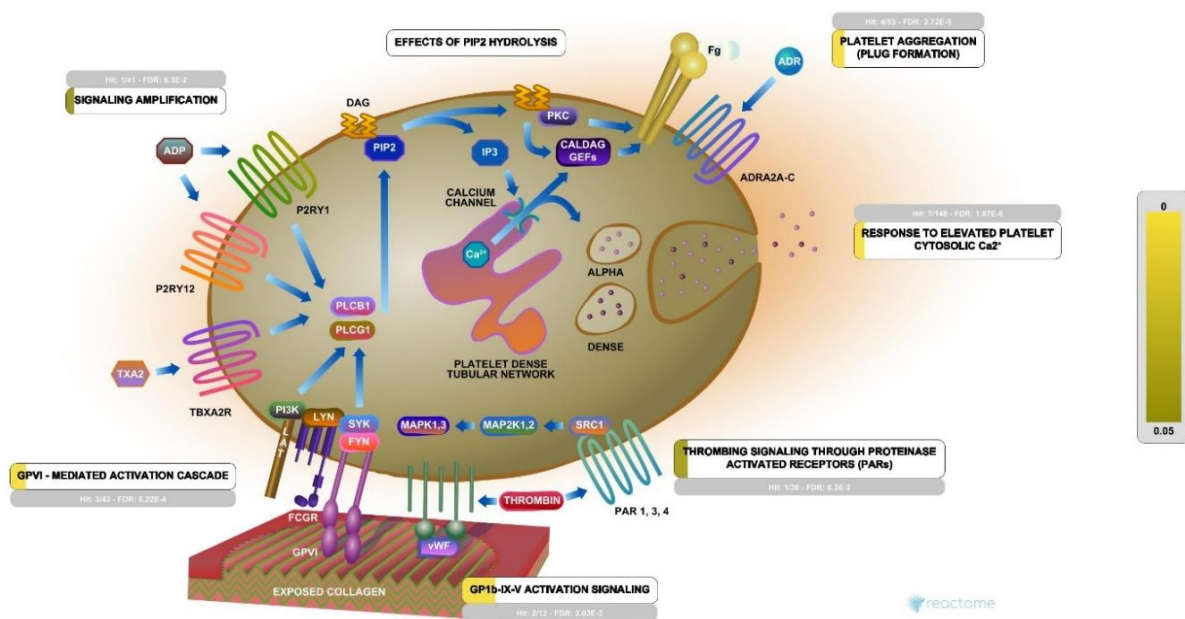


Figura 2. Representación de la ruta metabólica de “activación, señalización y agregación de plaquetas” (Obtenida de Reactome; <https://reactome.org/>)

6. CONCLUSIONES

Los resultados presentados en este TFG contribuyen al conocimiento actual sobre la arquitectura genética del carácter eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne. Las conclusiones extraídas de este trabajo son las siguientes:

1. Mediante la revisión sistemática de artículos de RNA-Seq sobre la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne hemos podido identificar 203 DEG en común entre los 12 estudios analizados, denominados *genes candidatos funcionales*. Estos resultados refuerzan la importancia de la aproximación metodología propuesta en este TFG para integrar y confirmar hallazgos científicos relevantes partiendo de datos heterogéneos.

2. Entre los 203 genes candidatos funcionales, cabe resaltar dos DEG, *MAPK1* y *TUBA4A*, como clave para la eficiencia alimentaria en el ganado vacuno de carne. Estos genes fueron identificados como DEG para el carácter estudiado en cuatro de los artículos revisados y están implicados en funciones como la migración celular y la organización de la matriz extracelular.

3. Los análisis de enriquecimiento funcional realizados a partir de los 203 genes candidatos funcionales han confirmado la importancia de determinados procesos biológicos, rutas metabólicas y componentes celulares en la eficiencia alimentaria del ganado vacuno de carne. Entre los términos y rutas biológicas clave para el fenotipo estudiado destacaron la organización de los tejidos, la migración celular, la agregación de plaquetas, y el sistema inmune innato, así como componentes estructurales como los lisosomas, ribosomas, y la matriz extracelular.

7. REFERENCIAS

- Ahmad, K., Lim, J. H., Lee, E. J., Chun, H. J. *et al.* (2021) "Extracellular matrix and the production of cultured meat", *Foods*, 10(12): 3116. doi:10.3390/foods10123116.
- Alexandre, P. A., Kogelman, L. J. A., Santana, M. H. A., Passarelli, D. *et al.* (2015) "Liver transcriptomic networks reveal main biological processes associated with feed efficiency in beef cattle", *BMC genomics*, 16: 1073. doi:10.1186/s12864-015-2292-8. Alexandre, P. A., Naval-Sanchez, M., Porto-Neto, L. R., Ferraz, J. B. S. *et al.* (2019) "Systems biology reveals NR2F6 and TGFB1 as key regulators of feed efficiency in beef cattle", *Frontiers in genetics*, 10: 230. doi: 10.3389/fgene.2019.00230.
- Andrews, N. C. (2008) "Forging a field: the golden age of iron biology", *Blood*, 112(2), pp. 219-230. doi: 10.1182/blood-2007-12-077388.
- Archer, J. A., Arthur, P. F., Herd, R. M., Parnell, P. F. *et al.* (1997) "Optimum postweaning test for measurement of growth rate, feed intake, and feed efficiency in british breed cattle", *Journal of animal science*, 75, pp. 2024-2032. doi: 10.2527/1997.7582024x.
- Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G. *et al.* (2017) "The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review)", *International journal of molecular medicine*, 40(2), pp. 271–280. doi:10.3892/ijmm.2017.3036.
- Arthur, J. P. y Herd, R. (2008) "Residual feed intake in beef cattle", *Revista brasileira de zootecnia*, 37, pp. 269-279. doi: 10.1590/S1516-35982008001300031.
- Basarab, J. A., Price, M. A., Aalhus, J. L., Okine, E. K. *et al.* (2011) "Residual feed intake and body composition in young growing cattle", *Canadian journal of animal science*, 83(2), pp. 189–204. doi:10.4141/A02-065.
- Baum, B. y Georgiou, M. (2011) "Dynamics of adherens junctions in epithelial establishment, maintenance, and remodeling", *Journal of cell biology*, 192(6), pp. 907-917. doi: 10.1083/jcb.201009141.
- Berry, D. P. y Crowley, J. J. (2013) "Cell biology symposium: genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle", *Journal of animal science*, 91, pp. 1594-1613. doi: 10.2527/jas.2012-5862.
- Björkholm, B., Bok, C. M., Lundin, A., Rafter, J. *et al.* (2009) "Intestinal microbiota regulate xenobiotic metabolism in the liver", *Plos one*, 4(9): e6958. doi: 10.1371/journal.pone.0006958.
- Bottje, W., Kong, B. W., Reverter, A., Waardenberg, A. J. *et al.* (2017a) "Progesterone signalling in broiler skeletal muscle is associated with divergent feed efficiency", *BMC systems biology*, 11(1): 29. doi:10.1186/s12918-017-0396-2.
- Bottje, W. G., Lassiter, K., Piekarski-Welsher, A., Dridi, S. *et al.* (2017b) "Proteogenomics reveals enriched ribosome assembly and protein translation in Pectoralis major of high feed efficiency pedigree broiler males", *Frontiers in physiology*, 8: 306. doi:10.3389/fphys.2017.00306.
- Boutinaud, M. y Jammes, H. (2002) "Potential uses of milk epithelial cells: a review", *Reproduction nutrition development*, 42, pp. 133-147. doi: 10.1051/rnd:2002013.
- Brito, L. F., Oliveira, H. R., Houlahan, K., Fonseca, P. A. S. *et al.* (2020) "Genetic mechanisms underlying feed utilization and implementation of genomic selection for improved feed efficiency in dairy cattle", *Canadian journal of animal science*, 100(4), pp. 587–604. doi:10.1139/cjas-2019-0193.
- Carmelo, V. A. O. y Kadarmideen, H. N. (2020) "Genome regulation and gene interaction networks inferred from muscle transcriptome underlying feed efficiency in pigs", *Frontiers in genetics*, 11: 650. doi: 10.3389/fgene.2020.00650.
- Charles Bai, S., Hardy, R. W. y Hamidoghli, A. (2022) "Diet analysis and evaluation", en Hardy, R. W. y Kaushik, S. J. (eds.) *Fish Nutrition*. 4.^a ed. Estados Unidos y República de Corea: Academic Press, pp. 709–743.
- Chen, W., Alexandre, P. A., Ribeiro, G., Fukumasu, H. *et al.* (2021) "Identification of predictor genes for feed efficiency in beef cattle by applying machine learning methods to multi-tissue transcriptome data", *Frontiers in genetics*, 12: 619857. doi: 10.3389/fgene.2021.619857.
- Cloonan, N., Forrest, A. R. R., Kollé, G., Gardiner, B. B. A. *et al.* (2008) "Stem cell transcriptome profiling via massive-scale mRNA sequencing", *Nature methods*, 5(7), pp. 613-619. doi: 10.1038/nmeth.1223.
- Connor, E. E. (2015) "Invited review: improving feed efficiency in dairy production: challenges and possibilities", *Animal*, 9(3), pp. 395-408. doi: 10.1017/S1751731114002997.

- Costamagna, D., Costelli, P., Sampaolesi, M. y Penna, F. (2015) "Role of inflammation in muscle homeostasis and myogenesis", *Mediators of inflammation*, 2015: 805172. doi: 10.1155/2015/805172.
- Cunningham, F., Allen, J. E., Allen, J., Alvarez-Jarreta, J. *et al.* (2022) *Ensembl*. Disponible en: <https://www.ensembl.org/index.html> (Accedido: 7 de junio de 2023).
- Destoumieux-Garzón, D., Bonnet, P., Teplitsky, C., Criscuolo, F. *et al.* (2021) "Animal board invited review: oneARK: strengthening the links between animal production science and animal ecology", *Animal*, 15: 100053. doi: 10.1016/j.animal.2020.100053.
- Drechsel, D. N. y Kirschner, M. W. (1994) "The minimum GTP cap required to stabilize microtubules", *Current biology*, 4(12), pp. 1053–1061. doi:10.1016/s0960-9822(00)00243-8.
- Eash, J., Olsen, A., Breur, G., Gerrard, D. *et al.* (2007) "FGFR1 inhibits skeletal muscle atrophy associated with hindlimb suspension", *BMC musculoskeletal disorders*, 8: 32. doi:10.1186/1471-2474-8-32.
- Emrich, S. J., Barbazuk, W. B., Li, L. y Schnable, P. S. (2007) "Gene discovery and annotation using LCM-454 transcriptome sequencing", *Genome research*, 17, pp. 69-73. doi: 10.1101/gr.5145806.
- Everard, A., Plovier, H., Rastelli, M., Van Hul, M. *et al.* (2019) "Intestinal epithelial N-acylphosphatidylethanolamine phospholipase D links dietary fat to metabolic adaptations in obesity and steatosis", *Nature communications*, 10: 457. doi: 10.1038/s41467-018-08051-7.
- Exton, S., Herd, R., Davies, L., Archer, J. *et al.* (2000) "Commercial benefits to the beef industry from genetic improvement in net feed efficiency", *Journal of animal science*, 13, pp. 338-341.
- Fonseca, L. D., Eler, J. P., Pereira, M. A., Rosa, A. F. *et al.* (2019) "Liver proteomics unravel the metabolic pathways related to feed efficiency in beef cattle", *Scientific reports*, 9 : 5364. doi:10.1038/s41598-019-41813-x.
- Garalde, D. R., Snell, E. A., Jachimowicz, D., Sipos, B. *et al.* (2018) "Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores", *Nature methods*, 15, pp. 201-206. doi: 10.1038/nmeth.4577.
- Graham, C. y Simmons, N. L. (2004) "Functional organization of the bovine rumen epithelium", *American journal of physiology: regulatory, integrative & comparative physiology*, 288, pp. 173-181. doi: 10.1152/ajpregu.00425.2004.
- Guan, L. L., Nkrumah, J. D., Basarab, J. A. y Moore, S. S. (2008) "Linkage of microbial ecology to phenotype: correlation of rumen microbial ecology to cattle's feed efficiency", *Federation of european microbiological societies microbiology letters*, 288, pp. 85-91. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01343.x.
- Guo, Y., Zhang, X., Huang, W. y Miao, X. (2017) "Identification and characterization of differentially expressed miRNAs in subcutaneous adipose between Wagyu and Holstein cattle", *Scientific reports*, 7: 44026. doi: 10.1038/srep44026.
- Heisenberg, C. P. y Bellaïche, Y. (2013) "Forces in tissue morphogenesis and patterning", *Cell*, 153(5), pp. 948-962. doi: 10.1016/j.cell.2013.05.008.
- Herd, R. M. y Arthur, P. F. (2009) "Physiological basis for residual feed intake", *Journal of animal science*, 87(14 Suppl), pp. 64-71. doi: 10.2527/jas.2008-1345.
- Higgins, M. G., Kenny, D. A., Fitzsimons, C., Blackshields, G. *et al.* (2019) "The effect of breed and diet type on the global transcriptome of hepatic tissue in beef cattle divergent for feed efficiency", *Biomed central genomics*, 20: 525. doi: 10.1186/s12864-019-5906-8.
- Hill, R. A. (2012) *Feed efficiency in the beef industry*. 1.^a ed. Idaho: Wiley-Blackwell.
- Horodyska, J., Wimmers, K., Reyer, H., Trakooljul, N. *et al.* (2018a) "RNA-seq of muscle from pigs divergent in feed efficiency and product quality identifies differences in immune response, growth, and macronutrient and connective tissue metabolism", *Biomed central genomics*, 19:791. doi: 10.1186/s12864-018-5175-y.
- Horodyska, J., Oster, M., Reyer, H., Mullen, A. M. *et al.* (2018b) "Analysis of meat quality traits and gene expression profiling of pigs divergent in residual feed intake", *Meat science*, 137, pp. 265–274. doi:10.1016/j.meatsci.2017.11.021.
- Horodyska, J., Reyer, H., Wimmers, K., Trakooljul, N. *et al.* (2019a) "Transcriptome analysis of adipose tissue from pigs divergent in feed efficiency reveals alteration in gene networks related to adipose growth, lipid metabolism, extracellular matrix, and immune response", *Molecular genetics and genomics*, 294(2), pp. 395–408. doi:10.1007/s00438-018-1515-5.

- Horodyska, J., Hamill, R. M., Reyer, H., Trakooljul, N. *et al.* (2019b) "RNA-seq of liver from pigs divergent in feed efficiency highlights shifts in macronutrient metabolism, hepatic growth and immune response", *Frontiers in genetics*, 10: 117. doi: 10.3389/fgene.2019.00117.
- Huang, C., Jacobson, K. y Schaller, M. D. (2004) "MAP kinases and cell migration", *Journal of cell science*, 117(20), pp. 4619–4628. doi:10.1242/jcs.01481.
- Keel, B. N., Zarek, C. M., Keele, J. W., Kuehn, L. A. *et al.* (2018) "RNA-seq meta-analysis identifies genes in skeletal muscle associated with gain and intake across a multi-season study of crossbred beef steers", *Biomed central genomics*, 19: 430. doi:10.1186/s12864-018-4769-8.
- Keel, B. N. y Lindholm-Perry, A. K. (2022) "Recent developments and future directions in meta-analysis of differential gene expression in livestock RNA-Seq", *Frontiers in genetics*, 13: 983043. doi:10.3389/fgene.2022.983043.
- Keesing, F., Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A. *et al.* (2010) "Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases", *Nature*, 468, pp. 647-652. doi:10.1038/nature09575.
- Kelly, A. K., Waters, S. M., McGee, M., Browne, J. A. *et al.* (2013) "Expression of key genes of the somatotropic axis in longissimus dorsi muscle of beef heifers phenotypically divergent for residual feed intake", *American society of animal science*, 91(1), pp. 159-167. doi: 10.2527/jas.2012-5557
- Kenny, D. A., Fitzsimons, C., Waters, S. M. y McGee, M. (2018) "Invited review: improving feed efficiency of beef cattle - the current state of the art and future challenges", *Animal*, 12(9), pp. 1815-1826. doi:10.1017/S1751731118000976.
- Khansefid, M., Millen, C. A., Chen, Y., Pryce, J. E. *et al.* (2017) "Gene expression analysis of blood, liver, and muscle in cattle divergently selected for high and low residual feed intake", *Journal of animal science*, 95(11), pp. 4764-4775. doi:10.2527/jas2016.1320.
- Koch, R. M., Swiger, L. A., Chambers, D. y Gregory, K. E. (1963) "Efficiency of feed use in beef cattle", *Journal of animal science*, 22(2), pp. 486-494. doi: 10.2527/jas1963.222486x.
- Kong, B. W., Song, J. J., Lee, J. Y., Hargis, B. M. *et al.* (2011) "Gene expression in breast muscle associated with feed efficiency in a single male broiler line using a chicken 44K oligo microarray.", *Poultry science*, 90(11), pp. 2535-2547. doi:10.3382/ps.2011-01435.
- Kong, R. S. G., Liang, G., Chen, Y., Stothard, P. *et al.* (2016) "Transcriptome profiling of the rumen epithelium of beef cattle differing in residual feed intake", *Biomed central genomics*, 17: 592. doi:10.1186/s12864-016-2935-4.
- Lage, C. F. A., Coelho, S. G., Diniz Neto, H. C., Malacco, V. M. R. *et al.* (2020) "Relationship between feed efficiency indexes and thermography, blood, and ruminal parameters in pre-weaning dairy heifers", *Plos one*, 15(7): e0236118. doi:10.1371/journal.pone.0236118.
- Lancaster, P. A., Carstens, G. E., Michal, J. J., Brennan, K. M. *et al.* (2014) "Relationships between residual feed intake and hepatic mitochondrial function in growing beef cattle", *Journal of animal science*, 92(7), pp. 3134-3141. doi:10.2527/jas.2013-7409.
- de las Heras-Saldana, S., Clark, S. A., Duijvesteijn, N., Gondro, C. *et al.* (2019) "Combining information from genome-wide association and multi-tissue gene expression studies to elucidate factors underlying genetic variation for residual feed intake in Australian Angus cattle", *Biomed central genomics*, 20: 939. doi: 10.1186/s12864-019-6270-4.
- Lawrence, L. J., Fowler, V. R. y Novakofski, J. E. (2012) "Book review", *Agricultura tropica et subtropica*, 45(4), pp. 217-218. doi:10.2478/v10295-012-0034-3.
- Lean, I. J., Rabiee, A. R., Duffield, T. F. y Dohoo, I. R. (2009) "Invited review: use of meta-analysis in animal health and reproduction: methods and applications", *Journal of dairy science*, 92(8), pp. 3545–3565. doi:10.3168/jds.2009-2140.
- Liao, Y., Wang, J., Jaehnig, E. J., Shi, Z. *et al.* (2019) *WebGestalt*. Disponible en: <https://www.webgestalt.org/> (Accedido: 16 de marzo de 2023).
- de Lima, A. O., Koltjes, J. E., Diniz, W. J. S., de Oliveira, P. S. N. *et al.* (2020) "Potential biomarkers for feed efficiency-related traits in Nelore cattle identified by co-expression network and integrative genomics analyses", *Frontiers in genetics*, 11: 189. doi: 10.3389/fgene.2020.00189.

- Lindholm-Perry, A. K., Meyer, A. M., Kern-Lunbery, R. J., Cunningham-Hollinger, H. C. *et al.* (2022) "Genes involved in feed efficiency identified in a meta-analysis of rumen tissue from two populations of beef steers", *Animals*, 12(12): 1514. doi:10.3390/ani12121514.
- Lister, R., O'Malley, R. C., Tonti-Filippini, J., Gregory, B. D. *et al.* (2008) "Highly integrated single-base resolution maps of the epigenome in arabidopsis", *Cell*, 133(3), pp. 523-536. doi:10.1016/j.cell.2008.03.029.
- Løvendahl, P., Difford, G. F., Li, B., Chagunda, M. G. G. *et al.* (2018) "Review: selecting for improved feed efficiency and reduced methane emissions in dairy cattle", *Animal*, 12(s2), pp. s336-s349. doi:10.1017/S1751731118002276.
- Manzanilla-Pech, C. I. V., Stephansen, R. B., Difford, G. F., Løvendahl, P. *et al.* (2022) "Selecting for feed efficient cows will help to reduce methane gas emissions", *Frontiers in genetics*, 13: 885932. doi:10.3389/fgene.2022.885932.
- Marioni, J. C., Mason, C. E., Mane, S. M., Stephens, M. *et al.* (2008) "RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays", *Genome research*, 18(9), pp. 1509-1517. doi:10.1101/gr.079558.108.
- Moine, L., Rivoira, M., de Barboza, G. D., Pérez, A. *et al.* (2018) "Glutathione depleting drugs, antioxidants and intestinal calcium absorption", *World journal of gastroenterology*, 24(44), pp. 4979-4988. doi:10.3748/wjg.v24.i44.4979.
- Montanholi, Y., Fontoura, A., Swanson, K., Coomber, B. *et al.* (2013) "Small intestine histomorphometry of beef cattle with divergent feed efficiency", *Acta veterinaria scandinavica*, 55(1): 9. doi:10.1186/1751-0147-55-9.
- Mortazavi, A., Williams, B. A., McCue, K., Schaeffer, L. *et al.* (2008) "Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq", *Nature methods*, 5(7), pp. 621-628. doi:10.1038/nmeth.1226.
- Nafikov, R. A. y Beitz, D. C. (2007) "Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals", *The journal of nutrition*, 137(3), pp. 702-705. doi: 10.1093/jn/137.3.702.
- Nagalakshmi, U., Wang, Z., Waern, K., Shou, C. *et al.* (2008) "The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing", *Science*, 320(5881), pp. 1344-1349. doi:10.1126/science.1158441.
- Nielsen, M. K., MacNeil, M. D., Dekkers, J. C. M., Crews, D. H. *et al.* (2013) "Life-cycle, total-industry genetic improvement of feed efficiency in beef cattle: blueprint for the Beef Improvement Federation", *The professional animal scientist*, 29(6), pp. 559-565. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30285-0.
- Paradis, F., Yue, S., Grant, J. R., Stothard, P. *et al.* (2015) "Transcriptomic analysis by RNA sequencing reveals that hepatic interferon-induced genes may be associated with feed efficiency in beef heifers", *American society of animal science*, 93(7), pp. 3331-3341. doi: 10.2527/jas.2015-8975.
- Patience, J. F., Rossoni-Serão, M. C. y Gutiérrez, N. A. (2015) "A review of feed efficiency in swine: biology and application", *Journal of animal science and biotechnology*, 6(1): 33. doi:10.1186/s40104-015-0031-2.
- Perkins, S. D., Key, C. N., Garrett, C. F., Foradori, C. D. *et al.* (2014) "Residual feed intake studies in Angus-sired cattle reveal a potential role for hypothalamic gene expression in regulating feed efficiency", *Journal of animal science*, 92(2), pp. 549-560. doi:10.2527/jas2013-7019.
- Rauw, W. M. (2012) "Immune response from a resource allocation perspective", *Frontiers in genetics*, 3: 267. doi:10.3389/fgene.2012.00267.
- Reynolds, C. K. (1992) "Metabolism of nitrogenous compounds by ruminant liver", *The journal of nutrition*, 122(3 Suppl), pp. 850-854. Doi: 10.1093/jn/122.suppl_3.850.
- Sargeant, J. M., Rajic, A., Read, S. y Ohlsson, A. (2006) "The process of systematic review and its application in agri-food public-health", *Preventive veterinary medicine*, 75(3-4), pp. 141-151. doi:10.1016/j.prevetmed.2006.03.002.
- Sehested, J., Diernaes, L., Møller, P. D. y Skadhauge, E. (1999) "Ruminal transport and metabolism of short-chain fatty acids (SCFA) in vitro: effect of SCFA chain length and pH", *Comparative biochemistry and physiology*, 123(4), pp. 359-368. doi: 10.1016/s1095-6433(99)00074-4.
- Serna-García, M., Fonseca, L. F. S., Panadero Romero, J. J., Carretero Asuncion, J. *et al.* (2023) "Transcriptome profiling of the liver in Nellore cattle phenotypically divergent for RFI in two genetic groups", *Animals*, 13(3): 359. doi:10.3390/ani13030359.

- Soret, B., Mendizabal, J. A., Arana, A. y Alfonso, L. (2016) "Expression of genes involved in adipogenesis and lipid metabolism in subcutaneous adipose tissue and longissimus muscle in low-marbled Pirenaica beef cattle", *Animal*, 10(12), pp. 2018-2026. doi:10.1017/S175173111600118X.
- Stark, R., Grzelak, M. y Hadfield, J. (2019) "RNA sequencing: the teenage years", *Nature reviews genetics*, 20(11), pp. 631-656. doi:10.1038/s41576-019-0150-2.
- Steinfeld, H., Gerber, P. J., Wassenaar, T., Castel, V. *et al.* (2006) *Livestock's long shadow: environmental issues and options*. 24.^a ed. Roma: FAO.
- Tizioto, P. C., Coutinho, L. L., Decker, J. E., Schnabel, R. D. *et al.* (2015) "Global liver gene expression differences in Nelore steers with divergent residual feed intake phenotypes", *Biomed central genomics*, 16(1): 242. doi:10.1186/s12864-015-1464-x.
- Toral, P. G., Hervás, G., Suárez-Vega, A., Arranz, J. J. *et al.* (2016) "Isolation of RNA from milk somatic cells as an alternative to biopsies of mammary tissue for nutrigenomic studies in dairy ewes", *Journal of dairy science*, 99(10), pp. 8461-8471. doi:10.3168/jds.2016-11184.
- Trefts, E., Gannon, M. y Wasserman, D. H. (2017) "The liver", *Current biology*, 27(21), pp. 1147-1151. doi:10.1016/j.cub.2017.09.019.
- Vigors, S., O'Doherty, J. V., Kelly, A. K., O'Shea, C. J. *et al.* (2016) "The effect of divergence in feed efficiency on the intestinal microbiota and the intestinal immune response in both unchallenged and lipopolysaccharide challenged ileal and colonic explants", *Plos one*, 11(2): e0148145. doi:10.1371/journal.pone.0148145.
- Wang, X., Zhang, M., Flores, S. R. L., Woloshun, R. R. *et al.* (2019) "Oral gavage of ginger nanoparticle-derived lipid vectors carrying Dmt1 siRNA blunts iron loading in murine hereditary hemochromatosis", *Molecular therapy*, 27(3), pp. 493-506. doi:10.1016/j.ymthe.2019.01.003.
- Wang, Z., Gerstein, M. y Snyder, M. (2009) "RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics", *Nature reviews genetics*, 10(1), pp. 57-63. doi: 10.1038/nrg2484.
- Weber, K. L., Welly, B. T., Van Eenennaam, A. L., Young, A. E. *et al.* (2016) "Identification of gene networks for residual feed intake in Angus cattle using genomic prediction and RNA-seq", *Plos one*, 11(3): e0152274. doi:10.1371/journal.pone.0152274.
- Wickramasinghe, S., Cánovas, A., Rincón, G. y Medrano, J. F. (2014) "RNA-Sequencing: A tool to explore new frontiers in animal genetics", *Livestock science*, 166, pp. 206–216. doi:10.1016/j.livsci.2014.06.015.
- Xiao, C., Deng, J., Zeng, L., Sun, T. *et al.* (2021) "Transcriptome analysis identifies candidate genes and signaling pathways associated with feed efficiency in Xiayan chicken", *Frontiers in genetics*, 12: 607719. doi:10.3389/fgene.2021.607719.
- Yang, C., Han, L., Li, P., Ding, Y. *et al.* (2021) "Characterization and duodenal transcriptome analysis of Chinese beef cattle with divergent feed efficiency using RNA-seq", *Frontiers in genetics*, 12: 741878. doi:10.3389/fgene.2021.741878.
- Yue, J. y López, J. M. (2020) "Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis", *International journal of molecular sciences*, 21(7): 2346. doi:10.3390/ijms21072346.
- Zhang, W., Liu, Y. y Zhang, H. (2021) "Extracellular matrix: an important regulator of cell functions and skeletal muscle development", *Cell and bioscience*, 11(1): 65. doi:10.1186/s13578-021-00579-4.
- Zhong, W., Yang, C., Zhu, L., Huang, Y. Q. *et al.* (2020) "Analysis of the relationship between the mutation site of the SLC39A4 gene and acrodermatitis enteropathica by reporting a rare Chinese twin: a case report and review of the literature", *Biomed central pediatrics*, 20(1): 34. doi:10.1186/s12887-020-1942-4.
- Zhou, M., Zhu, Z., Sun, H. Z., Zhao, K. *et al.* (2022) "Breed dependent regulatory mechanisms of beneficial and non-beneficial fatty acid profiles in subcutaneous adipose tissue in cattle with divergent feed efficiency", *Scientific Reports*, 12(1): 4612. doi:10.1038/s41598-022-08572-8.