

RESPUESTAS TRANSCRIPTÓMICAS Y REGIONES GENÓMICAS ASOCIADAS A LA ELIPSIDAD EN EL LENGUADO SENEGALÉS

Gayo P.¹, Berbel C.¹, Gómez-Maldonado J.², Claros M.G.^{3,4,5,6}, Manchado M.^{1*}

¹ IFAPA Centro El Toruño, Junta de Andalucía, Camino Tiro Pichón s/n, 11500 El Puerto de Santa María, Cádiz, Spain

² Sequencing and Genomics Unit, Supercomputing and Bioinnovation Center, Universidad de Málaga, 29590 Málaga, Spain

³ Department of Molecular Biology and Biochemistry, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, Spain

⁴ CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), 29071 Málaga, Spain

⁵ Institute of Biomedical Research in Malaga (IBIMA), IBIMA-RARE, 29010 Málaga, Spain

⁶ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC), 29010 Málaga, Spain

Resumen

Este estudio se investigan las características esqueléticas, perfiles transcriptómicos y regiones genómicas de dos grupos de hermanos de similar peso pero con grandes diferencias en la elipsidad (ELL) corporal (HEvsLE). Nuestros resultados mostraron que lenguados HE tuvieron más peso, presentaron un mayor número de vértebras así como un mayor tamaño de los espacios intervertebrales. Las hembras presentaron mayor anchura de la región ventral para una misma ELL, indicando un reajuste corporal. Los patrones de expresión identificaron entre 55 y 290 transcritos diferencialmente expresados (DETs) entre HE y LE en músculo y pterigióforos, respectivamente con un gran efecto del sexo. El mayor número de categorías funcionales enriquecidas se encontró en el hígado (24) y pterigióforos (14). Un subgrupo de 31 DETs entre HE y LE lo fueron en al menos dos tejidos. En total, se identificaron cinco ventanas genómicas significativas asociadas con ELL. La ventana ubicada en el grupo de ligamiento (LG) 5 incluyó el gen *malt1*, que también se encontró entre los DETs ubicuos en varios tejidos. *malt1* apareció localizado muy cerca del gen *bmpr1b* dentro de la zona caliente de LG5, indicando que rutas mediadoras de respuestas inflamatorias y de señalización BMP podrían ser responsables de las diferencias en las características esqueléticas y de elipsidad corporal.

Introducción

La morfología corporal es un rasgo complejo con un gran impacto en la fisiología y el crecimiento de los peces, siendo particularmente relevante en peces planos. El lenguado senegalés presenta un cuerpo elíptico, con una gran plasticidad del esqueleto axial, que se manifiesta en un número variable de vértebras y altas tasas de malformaciones (>50% de animales cultivados), principalmente en el complejo caudal y la región caudal (de Azevedo *et al.*, 2020). Además, presenta una gran variabilidad en su morfología externa que resulta en descartes del 12 al 15% de los lenguados. Este rasgo tiene una alta heredabilidad (>0,80) (Gayo *et al.*, 2023; Guerrero-Cozar *et al.*, 2021) indicando un alto componente genético. Dado que la ELL es un variable fácilmente identificable por los consumidores y explica el mayor porcentaje de variación corporal en lenguado (Gayo *et al.*, 2023) es importante estudiar los factores genéticos que regular dicha variable. Por ello, el objetivo de este trabajo ha sido investigar la arquitectura genética y mecanismos de plasticidad que regulan la morfología del lenguado.

Materiales y métodos

Se seleccionó una familia de lenguado del programa de selección genética entre CUPIMAR y IFAPA. Para la selección de los grupos, se estimaron los valores mejorantes (EBVs) para ELL ajustando BLUP a un modelo animal y usando el peso como covariable. Se seleccionaron dos grupos de hermanos completos con alta ELL (HE; 4:6 hembra(F): macho(M); EBV = +8,2 ± 5,2) y baja ELL (LE; 8:6 F:M; EBV = -16,4 ± 7,7). Los animales se sacrificaron y se recogieron muestras de músculo, pterigióforos ventrales, hígado y cerebro. La caracterización fenotípica se hizo mediante 14 variables morfométricas y 12 esqueléticas, y sus ratios determinadas mediante análisis de imagen digital y radiográfico. Posteriormente se llevó a cabo un análisis de

expresión diferencial bajo un diseño multifactorial 2x2 [ELL (HEvsLE) y sexo (MvsF)] para investigar respuestas conservadas, específicas de grupo y sus interacciones, y un análisis de enriquecimiento funcional con Cytoscape ClueGO. Para el análisis BSR-seq, se utilizaron los estadísticos G' y Fst con un enfoque de ventana deslizante para las poblaciones segregantes HE y LE.

Resultados y discusión

Las diferencias entre HE y LE se explicaron principalmente por cambios simultáneos en la longitud y anchura corporal. Además, el 90% de individuos de HE presentaron 37 vertebras sin malformaciones frente al 64,3% de LE que tenían 36 vertebras y una mayor incidencia de fusiones vertebrales. Las regiones caudales y abdominales fueron más largas en HE, lo que resultó en un esqueleto 6,2% más largo. Estas modificaciones explican los cambios en la longitud axial con alargamiento de los cuerpos vertebrales y sus espacios intervertebrales.

Respecto a los patrones de expresión, el número total de DETs entre HE y LE osciló entre 55 y 290 en músculo y pterigióforos, respectivamente. Se observó un gran efecto del sexo con más del 60% de DETs co-regulados por sexo en los tejidos analizados. Se encontró una alta interacción M × F entre HE y LE, característico de especies con dimorfismo sexual (Wang *et al.*, 2022). El mayor número de categorías funcionales enriquecidas se identificó en hígado (sistema inmune, metabolismo, transporte, respuestas hormonales y homeostasis) y pterigióforos (regulación del ciclo celular, elongación y traslación, estructura celular y forma, comportamiento locomotor e importe de iones de calcio). Un subgrupo de 31 DETs entre HE y LE estuvo conservado en al menos dos tejidos y cuatro DETs (*cct2*, *madd*, *malt1* and *il8l*) en los tres tejidos.

Al estudiar las frecuencias alélicas de los SNPs entre los grupos HE y LE se identificaron dos regiones genómicas en los LG5 y LG15 y tres regiones secundarias en los LG6, LG9 y LG14 asociadas con ELL. La región de LG5 presentó una zona caliente que incluía los genes *bmpr1b*, *unc5c* and *malt1*. *Bmpr1b* está involucrado en la señalización BMP que parece tener un papel en la segmentación de la notocorda y sería el principal gen candidato que podría explicar las alteraciones vertebrales encontradas.

Palabras Clave:

Forma, Esqueleto, Transcriptómica, Ventanas genómicas

Referencias

- de Azevedo, A.M., Losada, A.P., Ferreiro, I., Riaza, A., Losada, V., Russo, T., Boglione, C., Vazquez, S. y M.I. Quiroga, 2020. Skeletal anomalies in Senegalese sole (*Solea senegalensis*, Kaup) fed with different commercial enriched artemia: A study in postlarvae and juveniles. *Animals* (Basel) 11.
- Gayo, P., Berbel, C., Korozi, E., Zerolo, R. y M. Manchado. 2023. Assessment of body shape variation using Elliptic Fourier descriptors and ellipse fitting estimators and their genetic estimates in the flatfish Senegalese sole. *Aquaculture* 577, 739948..
- Guerrero-Cozar, I., Jimenez-Fernandez, E., Berbel, C., Espinosa, E., Claros, M.G., Zerolo, R. y M. Manchado. 2021. Genetic estimates for growth and shape-related traits in the flatfish Senegalese sole. *Animals* 11, 1206.
- Wang, J., Yang, Q., Hu, Y., Xu, W., Yang, Y., Chen, S. y N. Wang. 2022. Identification of lncRNA-miRNA-mRNA network Involved in sexual size dimorphism of Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Front. Mar. Sci.* 9, 795525.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por MCIU/AEI/FEDER, UE, código RTA2017-00054-C03-01, proyecto EU H2020 acuerdo de financiación 817992 ERANET-BLUEBIO COFUND “Bestbrood” código PCI2020-111994 financiado por CDTI, MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y EU “NextGenerationEU”/PRTR. PGL recibió una beca predoctoral financiada por AEI.

Correo del Autor

manuel.manchado@juntadeandalucia.es