

## Plataforma tecnológica de análisis genético multiespecie de última generación para potenciar el desarrollo acuícola de Baja California Sur, México

Ricardo Pérez Enríquez<sup>1</sup>, Cristina Escobedo-Fregoso<sup>2</sup>, Gabriela Mendoza Carrión<sup>1</sup>, Adriana Max<sup>3</sup>, Susana Ávila<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR),  
<sup>2</sup>CONACYT-CIBNOR, <sup>3</sup>Posgrado-CIBNOR.

### Biotecnología y Ciencias Agropecuarias

#### Abstract

Genetic management programs in aquaculture species require the monitoring of the genetic diversity and inbreeding levels for their optimization. In the present work, we developed a technological platform known as "2bRAD" that would be simultaneously applicable to the economically important species of Baja California Sur. The results indicated the technical feasibility of the genetic characterization of marine fishes (snapper, almaco jack, totoaba) and oyster with a low-density panel of genetic markers. For shrimp, the panel was of medium size with a potential use in other type of genetic analyses. The economic feasibility of its application by larvae and juvenile producing companies is being evaluated.

**Keywords:** genetic selection, DNA, molecular markers, aquaculture.

#### Resumen

Los programas de manejo genético de las especies acuícolas requieren del monitoreo de diversidad genética y endogamia para optimizar su productividad. En este trabajo se desarrolló una plataforma tecnológica de análisis llamada "2bRAD" que pueda ser aplicable simultáneamente en las especies acuícolas de interés comercial de Baja California Sur. Los resultados indicaron la factibilidad de la técnica para realizar la caracterización genética con un panel de marcadores de baja densidad para peces marinos (pargo, jurel, totoaba) y ostión. Para el camarón se obtuvo un panel de mediana densidad con potencial para otro tipo de análisis genéticos. La factibilidad económica para su aplicación por parte de las empresas productoras de larvas y juveniles, está siendo evaluada.

**Palabras clave:** selección genética, ADN, marcadores moleculares, acuicultura.

#### Problemática

La implementación de programas de selección genética es indispensable para incrementar la productividad de los cultivos de especies acuícolas de Baja California Sur. Estos programas requieren de estrategias de monitoreo de la diversidad y pedigrí para evitar la endogamia, fenómeno que puede llevar a un bajo desempeño en la producción. Las plataformas comerciales para estos análisis son realizadas en el extranjero, lo que presenta dos desventajas: logística y costo. Por lo tanto, se requiere contar con herramientas tecnológicas de fácil acceso para las empresas de Baja California Sur, a un menor costo.

#### Usuarios

Empresas dedicadas a la producción de larva y semilla de crustáceos, peces y moluscos.

#### Introducción

El sector acuícola es uno de los de mayor crecimiento en Baja California Sur. Se estima que, en 2019, el cultivo de especies como el camarón, el ostión y peces marinos (por ejemplo, pargo, jurel, totoaba), entre otras, representó un valor de casi \$500 millones de pesos empleando a más de 1,350 personas en el estado (CSABCS, comunicación personal). Con el fin de potenciar esta producción, las empresas acuícolas requieren implementar programas de manejo y selección genética basados, entre otros elementos, del monitoreo de la

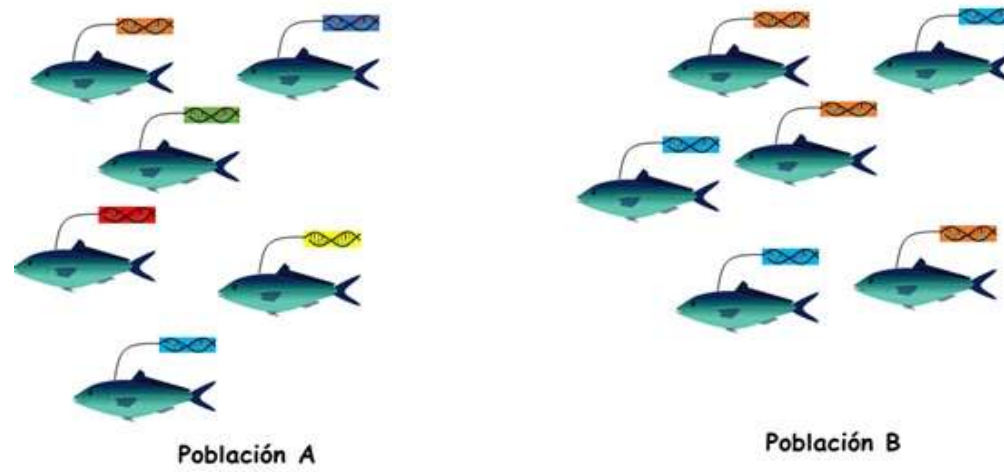


Fig. 1. Líneas de cultivo con distintos niveles de diversidad genética.

diversidad genética, la endogamia y del pedigrí, ya que un manejo sin controles adecuados puede llevar a un bajo desempeño en la producción (Gjedrem 2010). Una de las herramientas tecnológicas necesarias para ello, es la que utiliza el ADN para la obtención de la huella genética de los organismos de cultivo. Esta huella, basada en marcadores tipo "SNPs" (polimorfismos de nucleótidos simples), es utilizada para caracterizar la composición y diversidad genética, los niveles de endogamia, el parentesco dentro de lotes de producción y la diferenciación entre líneas de cultivo (Maqsood y Ahmad, 2017) (Fig. 1). Dependiendo de estos indicadores, las unidades de producción de larvas y semillas estarán en condiciones de tomar mejores decisiones de reproducción y manejo de sus lotes de cultivo. En México, hay estudios que han probado la utilidad de los SNPs para la caracterización genética de poblaciones de camarón de cultivo (Perez-Enríquez et al. 2018), silvestres (Mejía-Ruiz et al. 2021) y análisis de parentesco (Perez-Enríquez y Max-Aguilar, 2016). Sin embargo, dado que no se cuenta con las herramientas de aplicación rutinaria en nuestro país, se depende de enviar las muestras al extranjero para el procesamiento de laboratorio.

#### Objetivos

Desarrollar una plataforma de análisis basada en paneles de marcadores genéticos de baja densidad (100 a 300 SNPs), de aplicación simultánea para especies de crustáceos, moluscos y peces de importancia acuícola para el Estado de Baja California Sur.

#### Materiales y Métodos

La plataforma de análisis multiespecie se basa en la técnica llamada 2bRAD (Wang et al. 2012) que consiste en la obtención de SNPs después de cortar el ADN con "tijeras moleculares" (enzimas de restricción propiamente dichas) y unir a los fragmentos resultantes en secuencias sintéticas de ADN que contienen códigos de barra de identificación individual, lo que permite mezclar el ADN de muchos organismos durante la secuenciación masiva (MiSeq, Illumina) (Fig. 2). La caracterización genética posterior se realiza mediante análisis bioinformáticos utilizando como referencia los genomas disponibles en el banco mundial de datos genómicos "GenBank" del Instituto Nacional de Salud de los EE.UU (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), así como programas especializados como GenAlEx (Peakall y Smouse, 2012), Cervus (Kalinowski et al.,

2007) y Colony (Jones y Wang, 2010). El estudio se dividió en tres etapas: 1) análisis bioinformático para la selección de la enzima de restricción a utilizar; 2) secuenciación para la evaluación de la técnica en muestras representativas; 3) secuenciación para la validación de la plataforma con muestras procedentes de cultivos. Los análisis se llevaron a cabo en los laboratorios de Genética Acuícola y de Genómica y Bioinformática del CIBNOR. Las especies seleccionadas en la primera y segunda etapas fueron el camarón blanco *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*, el jurel *Seriola rivoliana* y el ostión del Pacífico *Crassostrea gigas*. En la tercera etapa se incluyeron, además de las anteriores y a manera de análisis exploratorio, el huachinango *Lutjanus peru*, el pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* y la totoaba *Totoaba macdonaldi*.

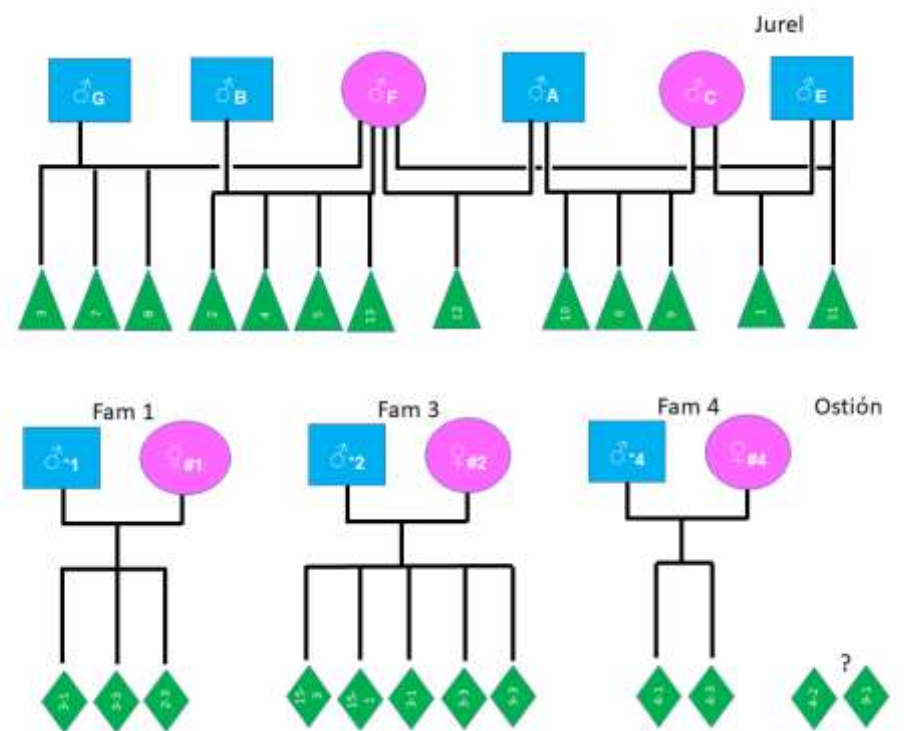


Fig. 3. Análisis de parentesco basados en perfiles genéticos 2bRAD para jurel (arriba) y ostión (abajo). Los triángulos y rombos corresponden a las progenies. Los ejemplares marcados con signo de interrogación no fueron asignados a ninguna familia particular.

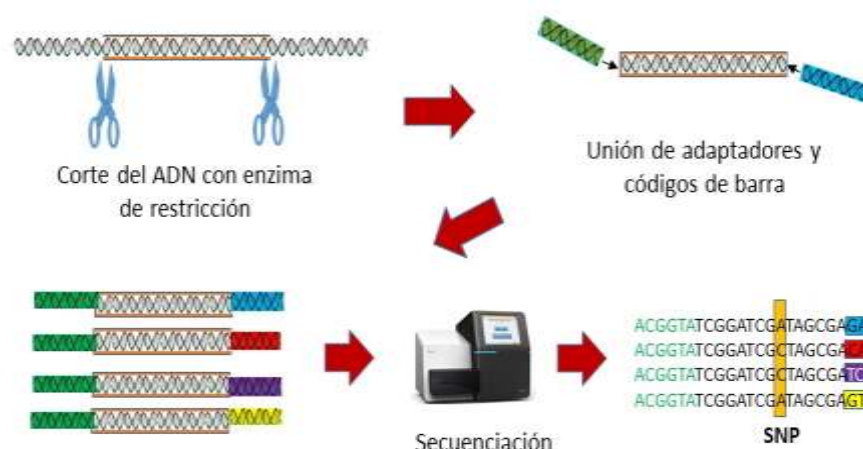


Figura 2. Diagrama simplificado de la técnica 2bRAD para descubrimiento de SNPs.

#### Resultados y Discusión

1) El análisis bioinformático con 4 enzimas (BsaXI, BcgI, Alfi y CspCI), indicó que la enzima BcgI presentó la mayor homogeneidad en el número de sitios de reconocimiento en el genoma de las especies y que, utilizando dos adaptadores con dos bases selectivas cada uno, sería posible obtener un panel de baja densidad con un número adecuado de marcadores genéticos. 2) La secuenciación de los genomas digeridos de las especies de interés con la enzima BcgI confirmó que el número de marcadores tipo SNPs que pueden obtenerse, utilizando dos adaptadores con dos bases selectivas cada uno, ronda entre 300 y 400 SNPs para el jurel y el ostión;-- siendo potencialmente útiles para análisis de diversidad genética y parentesco. Para el camarón, el número sobrepasa los 2,800 SNPs, que si bien abre la posibilidad a otro tipo de análisis, no sería factible como plataforma de baja densidad; por ello, esta especie requiere de una aproximación metodológica distinta. 3) El análisis de la validación indicó que el número de SNPs obtenido fue adecuado para la caracterización genética de las especies de estudio y, particularmente, para los análisis de parentesco de jurel y ostión (Fig. 3). Los análisis exploratorios con el huachinango, el pargo lunarejo y la totoaba indicaron el potencial de la misma tecnología para la caracterización genética de lotes de cultivo.

#### Conclusiones

Los resultados indican que la plataforma 2bRAD es útil para la caracterización genética de líneas de cultivo de diversas especies de importancia comercial (principalmente ostión y peces marinos), no sólo de Baja California Sur, sino también para otras regiones del país. Para el camarón, el grupo de trabajo del

CIBNOR está desarrollando una aproximación tecnológica distinta.

#### Impacto Socioeconómico

Las empresas acuícolas que requieran optimizar sus programas de entrecruzamiento y selección tendrán disponibilidad de utilizar esta herramienta tecnológica a nivel nacional, no teniendo que enviar sus muestras al extranjero. Para ello, la factibilidad económica para su aplicación se está analizando.