

Estimación de parámetros genéticos en dorada (*Sparus aurata* L.) para caracteres de interés industrial (PROGENSA ®)

Ana Navarro¹, Manuel Manchado², Alicia Estévez³, Guillermo Ramis⁴, Ivonne L. Montero¹, M. Ponce², José A. Sánchez⁵, Eva Armero⁶, Davinia Negrín-Báez¹, Manuel A. Puertas², Yaisel Borrell⁵, Marta García⁶, Juan J. Sánchez⁷, Ana M. Crespo², Gloria Blanco⁵, Emilio Mariadolores⁶, María J. Zamorano¹, Nuria Martín², Cristóbal Aguilera³, Franciso J. Roo¹, Miguel A. Toro⁸, Juan M. Afonso¹

1 Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC). Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM). Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA). Carretera Trasmontaña s/n, 35413, Arucas, Las Palmas.

2 Centro de Investigación y Formación Pesquera y Acuícola El Toruño (IFAPA). Ctra. N. IV Km. 654a. Camino de Tiro Pichón. 11500 - Puerto de Santa María. Cádiz.

3 Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA). Centro de Acuicultura. Ctra. Poble Nou Km 6, 43540 San Carlos de la Rápita, Tarragona.

4 Universidad de Murcia. Facultad de Veterinaria. Campus de Espinardo, 30100. Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), C/ Mayor S/N, 30150. Murcia.

5 Universidad de Oviedo. Calle Principado, 3. 33003 – Oviedo.

6 Universidad Politécnica de Cartagena. Plaza del Cronista Valverde, Edificio “La Milagrosa” 30202, Cartagena.

7 Instituto Nacional de Toxicología y Ciencias Forenses (INT). Campus de Ciencias de la Salud. La Cuesta 38320, La Laguna (Sta. Cruz de Tenerife).

8 Universidad Politécnica de Madrid. C/ Ramiro de Maeztu, 7. 28040, Madrid.

CORRESPONDING AUTHOR: Juan M. Afonso (jafonso@dpat.ulpgc.es)

Resumen. En este estudio, se ha protocolizado la metodología que permite la integración de la selección genética bajo los condicionantes propios del sistema de producción de dorada (*Sparus aurata* L.) poniéndola en práctica a nivel nacional en colaboración con 6 empresas españolas. Se criaron peces procedentes de tres lotes industriales (ICCM: Canarias, CULMASUR S.A.: Andalucía, PISCIMAR S.L.: Cataluña), marcados con *PIT* y mezclados, en las instalaciones de cuatro centros de investigación y cuatro empresas (ICCM y CANEXMAR S.L.: Canarias; IFAPA y PINSA: Andalucía; IRTA y CULTIMAR S.A.: Cataluña, IMIDA y ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO: Murcia). Se realizaron muestreos de crecimiento de manera simultánea en las 4 comunidades autónomas, además de un muestreo final a talla de sacrificio donde se valoraron nuevas e importantes variables fenotípicas, tras unificar criterios. Para la determinación de las relaciones parentales-filiares se pusieron a punto nuevas múltiplex PCR con microsatélites del mapa de dorada. Como resultado, ha sido posible estimar parámetros genéticos para caracteres de crecimiento, rendimiento, calidad del pez y de la carne a talla de ración.

Palabras claves: dorada, mejora genética, microsatélites, heredabilidad, interacción genotipo-ambiente.

Introducción

La dorada (*Sparus aurata* L.) es la especie marina más importante en el área de la acuicultura mediterránea. En este contexto, España ocupa el tercer lugar como productor de ésta con un total de 20.360 toneladas (Apromar, 2011). A pesar de ello, su producción industrial presenta aún importantes inconvenientes como son, entre otros, crecimientos no maximizados o la presencia de anomalías morfológicas desde edades tempranas. Para superar estos inconvenientes, las empresas llevan a cabo distintas actuaciones alrededor de la alimentación, del manejo de los lotes, de la prevención de enfermedades e incluso de la ubicación de sus instalaciones. Sin embargo, han sido muy escasas y simples las estrategias que han implicado intervención genética sobre los núcleos de reproductores, y por lo tanto del estrato productivo, a través del desarrollo de esquemas de selección para caracteres económicos de interés para los piscicultores. En parte, debido al alto costo económico que supone para las empresas organizar su producción con criterios genéticos, a la falta de metodología que conjugue los intereses de producción con la explotación de la variación genética y a las características biológicas de la dorada. Con el presente estudio se pretende protocolizar metodología que ponga al alcance del sector industrial de dorada de nuestro país la posibilidad de desarrollar esquemas de selección en esta especie mediante la definición de caracteres de interés comercial, el estudio de parámetros genéticos, la estimación de la interacción genotipo-ambiente y la gestión de reproductores bajo los propios condicionantes de la industria a través de los siguientes objetivos concretos:

- a) Desarrollar y estandarizar nuevas PCRs múltiple de microsatélites, a modo de panel de referencia, que permitan caracterizar de forma más rápida y económica stocks de reproductores y descendientes de dorada e inferir sus relaciones de parentesco bajo puesta masal.
- b) Evaluar y maximizar la contribución en términos del número de familias a través de puestas masales controladas que desemboquen en el control genético de los núcleos de reproductores.
- c) Cuantificar la interacción genotipo-ambiente a través de cultivo de distintos lotes de descendientes provenientes de distintos stocks de reproductores en diferentes sistemas de engorde (jaulas flotantes y esteros) y regiones (insular y continental).
- d) Estimar las heredabilidades de los caracteres de interés y las correlaciones genéticas y fenotípicas entre éstos, con el fin de que el sector industrial disponga de una información que le permita tomar decisiones más adecuadas de cara a explotar la rentabilidad de sus poblaciones sin modificar sustancialmente su sistema de producción.

Material y métodos

Se han constituido 3 lotes de reproductores con animales provenientes del sector industrial y poblaciones naturales en las instalaciones del ICCM (CCAA de Canarias), CULMASUR S.A. (CCAA de Andalucía) y PISCIMAR S.L. (CCAA de Cataluña), combinando la proporción de sexos y el número de reproductores; 59 (2♂:1♀), 103 (1♂:1♀) y 47 (1♂:1♀), respectivamente. Las siembras fueron transferidas y mantenidas en el centro de investigación de acuicultura de la comunidad autónoma participante (ICCM-Canarias, IFAPA-Andalucía, IRTA-Cataluña). La metodología aplicada para el cultivo desde la etapa de huevos hasta la de alevines se basó en los protocolos establecidos por Roo *et al* (2009). El crecimiento y estado general de las larvas se midió a los 5, 10, 20, 30, 40, 50 y 65 días post eclosión (dpe) del cultivo. A día 84 dpe, una muestra al azar de los peces de cada centro fue remitida a los restantes centros, por vía aérea o transporte por carretera, incluyendo al centro de Murcia - IMIDA. A partir de los 3 gramos (179 dpe), los alevines fueron marcados con PIT (Navarro *et al.*, 2006), a la vez que se les extrajo un trozo de aleta caudal para ser conservado en etanol hasta su análisis genético. Cada CCAA marcó unos 2.400 peces, entre los cuales estaban representados proporcionalmente alevines provenientes del ICCM, IFAPA e IRTA. En ese momento se midió el crecimiento y la incidencia de deformidades. Posteriormente, los peces marcados en cada CCAA fueron divididos en dos lotes de aproximadamente 500 peces (S-Estación) y 1.900 peces (S-Empresa). En ambos tipos de lotes estuvieron igualmente representadas todas las CCAA productoras de alevines (1/3 de cada). El S-Estación permaneció en el centro, mientras que el S-Empresa fue remitido a la

empresa colaboradora de cada CCAA; PIMSA en esteros (Andalucía), CULTIMAR S.A. (Cataluña) y SERVICIOS ATUNEROS DEL MEDITERRÁNEO S.L. (Murcia) en jaulas continentales y CANEXMAR S.L. (Canarias) en jaulas insulares, con el fin de ser engordados en condiciones industriales hasta su sacrificio (Fig. 1).

Durante el periodo de crecimiento se realizaron muestreos de crecimiento (269, 389, 539 dpe) de manera simultánea en las 4 comunidades autónomas, además de un muestreo final al sacrificio (689 dpe). Se analizaron un total de 4054 individuos para variables de crecimiento (peso, longitud, compacidad), de la canal (peso filete, peso canal, grasa visceral), de calidad (textura, composición de la carne y presencia/ausencia de todo tipo de deformidades).

Para la elaboración de nuevas múltiplex de microsatélites se rediseñaron 138 nuevos juegos de cebadores a partir del mapa genético de dorada (Franch *et al.*, 2006). Los cebadores se rediseñaron con la misma temperatura de hibridación (Yuryev *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2003) para poder ser combinados en 13 múltiplex PCRs. Con ellas se genotiparon 16 muestras no relacionadas de dorada para evaluar la variabilidad genética (Cervus 3.0.3) y la facilidad de lectura de los microsatélites, estableciendo antes una clasificación de errores de genotipado. A partir los mejores marcadores se establecieron nuevas reacciones de pcr múltiplex, de 11 microsatélites cada una, llamadas SMSa1 y SMSa2, teniendo en cuenta no repetir el grupo de ligamiento y que no se solaparan los amplicones por su color del fluorocromo y rango.

Usando sólo la SMSa1 se genotiparon todos los reproductores y sus descendientes (Gene mapper v.3.7), y se determinaron las relaciones parentales-filiales, mediante el programa VITASSING (v8.2.1) (Vandeputte *et al.*, 2006).

Los parámetros genéticos se estimaron con un modelo animal, siendo el tanque, la instalación y la comunidad los efectos fijos y el animal efecto aleatorio, usando el programa VCE v6.0 (Kovač *et al.*, 2002). Las interacciones GxA se estimaron mediante la correlación genética entre caracteres en todas las instalaciones.

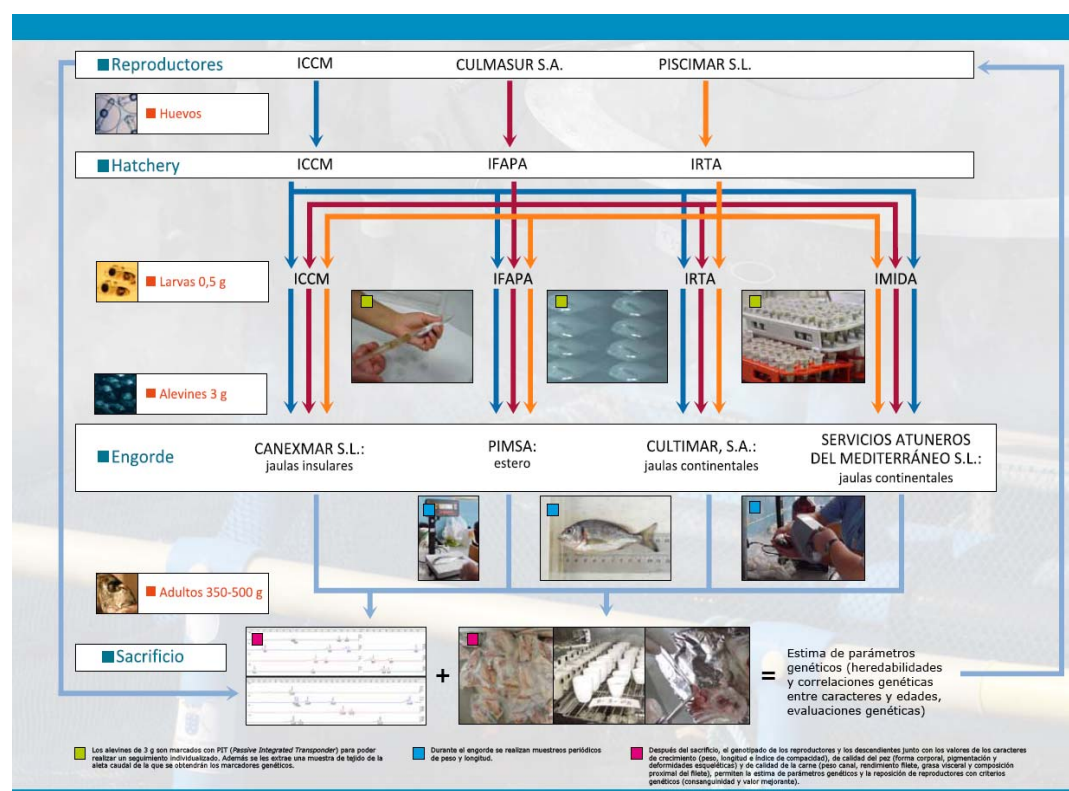


Fig. 1. Esquema de integración de la mejora genética en el tejido industrial de dorada.

Resultados y discusión

Todos los descendientes procedentes del lote de Canarias y el de Cataluña, se asignaron cada uno a una pareja de padres. En los descendientes del lote de Andalucía los resultados fueron igualmente satisfactorios excepto que el 20% era asignado a 2 parejas posibles, debido a que dos reproductores eran casi idénticos genéticamente.

Respecto a la contribución, los mayores valores se obtuvieron en el lote de Canarias (83%), que es de hecho el más utilizado por la empresa y el mayor número de familias se obtuvo en el lote de Andalucía (193 familias de hermanos carnales) si bien este lote era el más numeroso. De manera general, la contribución media fue muy buena (68%) y se formaron un total de 297 familias de hermanos carnales, 53 de medios hermanos maternos y 52 de medios hermanos paternos con un número medio familiar de 17,7.

Respecto a la interacción genotipo ambiente, las correlaciones genéticas fueron en general altas y positivas ($r > 0,40$) en todas las variables que presentaron heredabilidad, entre todas las instalaciones y empresas, indicando la ausencia de interacción genotipo ambiente entre sistemas de engorde y comunidades autónomas.

Los parámetros genéticos (heredabilidades y correlaciones) para el peso y la longitud a distintas edades concuerdan con las estimadas en dorada para estas variables (Navarro *et al.*, 2009a, Fernandes Farias *et al.*, 2010).

En la Tabla 1 se muestran los parámetros genéticos para algunas de variables analizadas en este estudio, de crecimiento, rendimiento, calidad de la carne y presencia/ausencia de todo tipo de deformidades. Los resultados de la Tabla 1 sugieren que El peso y la longitud son criterios igualmente válidos para la selección (Navarro *et al.*, 2009a). Las heredabilidades en general para todas las variables mostraron valores medios, incluyendo la presencia/ausencia de deformidades, carácter de gran importancia para la industria, confirmando los resultados de Astorga *et al.*, 2004 y Thorland *et al.*, 2007. El porcentaje canal no presentó casi heredabilidad, si bien su alta y negativa correlación genética con el porcentaje de grasa visceral sugiere que se podría mejorar por esta vía (Navarro *et al.*, 2009b). Destacar que se analizaron en este estudio variables para las cuales nunca se habían estimado antes parámetros genéticos en dorada, como el Fish Fat Meter (FFM), que es un método no invasivo para medir los lípidos musculares que mostró una alta correlación genética con éstos y mejor heredabilidad y la fuerza máxima medida con el texturómetro al pez entero.

Todos estos resultados revelan el potencial que tienen las empresas de dorada para mejorar su producción a través de la explotación de la variación genética aditiva, y demuestra que es posible implementar un programa de mejora genética en dorada, sin cambiar la idiosincrasia de la industria. Además la no existencia de interacción GxA sugiere que las empresas podrían exportar sus producciones mejoradas genéticamente entre comunidades y por último señalar que estos desarrollos constituyen en si mismos transferencia de conocimiento, ya que han sido realizados con las propias empresas del sector.

Referencias

- Apromar 2011. La acuicultura marina de peces en España.
- Astorga N., M.J. Zamorano, M.A. Toro, L.A. García Cortés, D. Montero y J.M. Afonso. 2004. Heredabilidad del carácter presencia o ausencia de deformaciones esqueléticas en dorada (*Sparus aurata* L.). *ITEA*. 100A, 3: 256-250.
- Fernandes Farias T., M. A. Toro, J. Fernández, A. Pino-Querido, M. Hermida, M. Herlin, G. Ballón Díaz, M. D. López Belluga y P. Martínez. Estimación de parámetros genéticos para caracteres de crecimiento en Dorada (*Sparus aurata* L.). *Actas de la XIV Reunión Nacional de Mejora Genética Animal*.

- Franch, R., Louro, B., Tsalavouta, M., Chatziplis, D., Tsigenopoulos, C.S., Sarropoulou, E., Antonello, J., Magoulas, A., Mylonas, C.C., Babbucci, M., Patarnello, T., Power, D.M., Kotoulas, G., Bargelloni, L. A genetic linkage map of the hermaphrodite teleost fish *Sparus aurata* L. *Genetics* 174, 851-861 (2006).
- Kovač, M., Groeneveld, E., García-Cortés, L.A., 2002. VCE-5: A package for the optimization of dispersion parameters. *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 20-23 August 2002, Montpellier, France.
- Navarro, A., Oliva, V., Zamorano, M.J., Gines, R., Izquierdo, M.S., Astorga, N., Afonso, J.M. Evaluation of PIT system as a method to tag fingerling of gilthead seabream (*Sparus auratus* L.): effects on growth, mortality and tag loss. *Aquaculture* 257, 309-315 (2006)
- Navarro, A., Zamorano, M.J., Hildebrandt, S., Ginés, R., Aguilera, C., Afonso, J.M., 2009a. Estimates of heritabilities and genetic correlations for growth and carcass traits in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.), under industrial conditions. *Aquaculture*. 289: 225-230.
- Navarro, A., Zamorano, M.J., Hildebrandt, S., Ginés, R., Aguilera, C., Afonso, J.M., 2009b. Estimates of heritabilities and genetic correlations for body composition traits and G × E interactions, in gilthead seabream (*Sparus auratus* L.) *Aquaculture* 295, 183–187.
- Sánchez, J.J., Børsting, C., Hallenberg, C., Buchard, A., Hernandez, A., Morling, N. Multiplex PCR And Minisequencing Of Snps –A Model With 35 Y-Chromosome Snps. *Forensic Science International*. 137: 74-84 (2003)
- Vandeputte, M., Mauger, S., Dupont-Nivet, M., 2006. An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. *Mol. Ecol. Notes* 6, 265–267.
- Thorland, I., N. Papaioannou, L. Kottaras, T. Refstie, S. Papasolomontos, M. Rye. 2007. Family based selection for production traits in gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in Greece. Congreso internacional de genética en acuicultura. *Aquaculture* 272S1
- Yuryev, A., Huang, J., Pohl, M., Patch, R., Watson, F., Bell, P., Donaldson, M., Phillips, M.S., Boyce-Jacino, M.T., 2002. Predicting the success of primer extension genotyping assays using statistical modeling. *Nucleic Acids Res.*, 30(23):e131 (2002)

Tabla 1. Correlaciones genéticas (en cursiva encima de la diagonal \pm E.T.), correlaciones fenotípicas (bajo la diagonal) y heredabilidades (en negrita en la diagonal \pm E.T.) de caracteres de crecimiento y calidad en dorada al sacrificio (689 días).

	<i>Peso</i>	<i>Long</i>	<i>Comp.</i>	<i>Peso canal</i>	<i>% Canal</i>	<i>Grasa visceral</i>	<i>%Grasa visceral</i>	<i>FFM</i>	<i>%Lípid musc.</i>	<i>%Hum musc.</i>	<i>Fuerza máxima</i>	<i>Deform</i>
<i>Peso</i>	0,31\pm0,07	0,95 \pm 0,03	0,40 \pm 0,14	0,99 \pm 0,00	0,08 \pm 0,26	0,76 \pm 0,07	0,28 \pm 0,14	0,59 \pm 0,12	0,42 \pm 0,13	-0,31 \pm 0,17	-0,52 \pm 0,14	-0,14 \pm 0,18
<i>Longitud</i>	0,90	0,37\pm0,09	0,00 \pm 0,11	0,92 \pm 0,03	0,34 \pm 0,24	0,57 \pm 0,11	0,12 \pm 0,17	0,50 \pm 0,14	0,18 \pm 0,15	-0,14 \pm 0,18	-0,25 \pm 0,12	0,10 \pm 0,18
<i>Compacidad</i>	0,34	-0,10	0,20\pm0,04	0,43 \pm 0,13	-0,63 \pm 0,20	0,54 \pm 0,11	0,34 \pm 0,14	0,37 \pm 0,15	0,52 \pm 0,12	-0,51 \pm 0,13	-0,64 \pm 0,13	-0,49 \pm 0,14
<i>Peso canal</i>	0,98	0,90	0,34	0,27\pm0,06	-0,07 \pm 0,27	0,73 \pm 0,08	0,24 \pm 0,17	0,59 \pm 0,11	0,44 \pm 0,14	-0,43 \pm 0,14	-0,62 \pm 0,12	-0,12 \pm 0,18
<i>% Canal</i>	0,09	0,03	-0,14	0,09	0,02\pm0,01	-0,43 \pm 0,23	-0,76 \pm 0,19	0,18 \pm 0,28	-0,25 \pm 0,33	0,30 \pm 0,06	0,49 \pm 0,24	-0,46 \pm 0,25
<i>Grasa visceral</i>	0,64	0,55	0,28	0,63	-0,08	0,23\pm0,05	0,84 \pm 0,06	0,51 \pm 0,10	0,64 \pm 0,09	-0,58 \pm 0,12	-0,66 \pm 0,11	-0,17 \pm 0,17
<i>% Grasa visceral</i>	0,25	0,22	0,10	0,26	-0,10	0,68	0,15\pm0,03	0,20 \pm 0,15	0,53 \pm 0,12	-0,44 \pm 0,14	-0,58 \pm 0,12	-0,05 \pm 0,16
<i>FFM</i>	0,47	0,41	0,35	0,47	0,05	0,36	0,21	0,30\pm0,07	0,94 \pm 0,05	-0,83 \pm 0,10	-0,50 \pm 0,17	-0,18 \pm 0,18
<i>% Lípidos muscular</i>	0,17	0,09	0,22	0,17	-0,09	0,22	0,18	0,28	0,24\pm0,05	-0,96 \pm 0,02	-0,63 \pm 0,11	-0,40 \pm 0,16
<i>% Humedad muscular</i>	-0,25	-0,15	-0,27	-0,25	0,04	-0,28	-0,21	-0,36	-0,67	0,15\pm0,04	0,69 \pm 0,09	0,50 \pm 0,15
<i>Fuerza máxima</i>	-0,17	-0,07	-0,25	-0,18	0,07	-0,21	-0,16	-0,18	-0,16	0,17	0,11\pm0,03	0,59 \pm 0,14
<i>Deformidad</i>	0,07	0,15	-0,16	0,06	-0,02	0,06	0,03	-0,03	0,04	-0,03	0,12	0,11\pm0,03