

Genómica y Acuicultura: aplicaciones para la mejora de la producción de rodaballo

Paulino Martínez

Catedrático de Genética y Director del Grupo ACUIGEN.
Dpto. Genética, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago, 27002 Lugo.
E-mail: paulino.martinez@usc.es

Producción y mejora genética en Acuicultura

En contraposición a las especies domésticas tradicionales, en las que la mayor parte de la producción se obtiene de un reducido número de especies de animales, la producción en acuicultura está enormemente diversificada. Actualmente se crían en el mundo cerca de 500 especies acuícolas, 250 de las cuales alcanzan producciones por encima de las 100 t., aunque las 10 primeras especies representan cerca del 50% de la producción total. Además, los recursos genéticos en las especies de Acuicultura se encuentran en poblaciones salvajes. Esto representa una ventaja, ya que es posible fundar los stocks de reproductores y planificar los programas de selección a medio y largo plazo desde su inicio y utilizando toda la diversidad presente en las poblaciones naturales.

La elevada fecundidad de los peces junto con la existencia de puesta natural en muchas especies, ha propiciado que programas de selección masal hayan sido de aplicación usual en acuicultura. Esto ha originado, en no pocos casos, problemas de depresión consanguínea. Programas de selección familiar existían en 2005 en no más de 30 especies, debido a la complejidad de su desarrollo por las necesidades de espacio y al coste asociado a la trazabilidad genealógica con marcadores moleculares. Sin embargo, la buena respuesta a la selección y la creciente competitividad en este campo de la producción, están determinando una demanda cada vez mayor de la tecnología genética desde las empresas del sector. Por ejemplo, para tasa de crecimiento, uno de los caracteres principales de selección en peces, se están obteniendo valores de progreso por generación próximos al 10% (rango 5-20%).

En los últimos años, la irrupción de las estrategias genómicas junto con el progresivo abaratamiento de los costes de secuenciación está propiciando un cambio de escenario en el campo de la mejora genética. Aunque de forma más lenta que en otras especies domésticas, la acuicultura ha ido incorporando las herramientas para el rastreo genómico mediante mapas genéticos; los microarrays para el análisis de expresión masiva de genes; la identificación de genes candidatos mediante estrategias de genómica comparada; y más recientemente, la utilización de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva que están incrementando los recursos genómicos de forma exponencial. Además de los genomas de 5 especies modelo, ya se dispone de genomas más o menos completos de varias especies de Acuicultura, como el salmón, la lubina, el bacalao o la ostra, y está en marcha la secuenciación de otros genomas. Por otro lado, la identificación de genes en especies de Acuicultura ha crecido enormemente, y actualmente se dispone de plataformas de microarrays y mapas genéticos en más de 20 especies.

La mayor parte de los caracteres de interés en producción son de naturaleza cuantitativa, es decir, muestran amplias distribuciones fenotípicas más o menos continuas. Estos caracteres están controlados por una importante cantidad de genes sujetos a la influencia

del ambiente. En consecuencia, la posibilidad de abordar la mejora a través de su disección genética es una tarea ardua y costosa, por lo que las estrategias de la mejora genética tradicional se centraron en aproximaciones estadísticas mediante el estudio de correlaciones entre parientes para estimar las heredabilidades, el parámetro que permite predecir la respuesta a la selección. A pesar de esta dificultad, las estrategias genómicas han permitido una disección más detallada de la base genética de los caracteres cuantitativos, pudiéndose detectar los efectos genéticos más notables de un carácter mediante el rastreo con mapas genéticos (QTL: "quantitative trait loci"). Para ello, se evalúan las asociaciones estadísticas entre marcadores del mapa y los fenotipos del carácter bajo estudio, teniendo en cuenta que los genes/marcadores localizados en la proximidad en los genomas tienden a transmitirse juntos. Una vez detectado un QTL consistentemente, existe la posibilidad de aplicar esta información en programas de selección asistida por marcadores (MAS: "Marker Assisted Selection"). Eventualmente, esta información puede también servir para intentar identificar el gen o genes responsables del mismo.

Identificación de QTL en rodaballo y su aplicación para la mejora de su cultivo

El rodaballo es una de las especies de mayor relevancia de la acuicultura española, representando además cerca del 80% de la producción mundial. Su cultivo es complejo y precisa cerca de 2 años para alcanzar la talla comercial. Asimismo, los ejemplares de mayor tamaño tienen un valor de mercado superior, mostrando las hembras un crecimiento superior al de los machos. Las condiciones de la Acuicultura intensiva favorecen la transmisión de enfermedades, lo que ha obligado al desarrollo de vacunas para la protección masiva de los alevines, con el consiguiente incremento de costes. Por todo esto, los principales objetivos de la selección genética en rodaballo son el incremento de la tasa de crecimiento, la consecución de poblaciones todo-hembras y la selección para resistencia a patologías de interés industrial.

Desde principios de los 90 se están desarrollando programas de selección familiar en las empresas más importantes del sector del rodaballo. Estos programas utilizan marcadores moleculares tipo microsatélite como soporte para la trazabilidad genealógica. Gracias a estos marcadores es posible la fundación de stocks de reproductores con elevada diversidad genética y mínimo parentesco, que constituyen la base para la producción y para el desarrollo de futuros programas de selección. Por otro lado, los recursos genómicos se han incrementado de forma muy notable en rodaballo. Se ha construido un mapa genético para el rastreo de QTLs y diseñado un oligo-microarray para la identificación de genes candidatos relacionados con caracteres productivos. Finalmente, como se indicó anteriormente, el genoma de rodaballo está secuenciándose utilizando las nuevas estrategias de secuenciación masiva.

A partir de estas herramientas, se ha realizado un rastreo genómico para la identificación de QTL para la determinación del sexo, tasa de crecimiento y resistencia a patologías de fuerte impacto industrial, habiéndose identificado QTL que explican gran parte de la varianza del carácter para determinación sexual y crecimiento. Para resistencia a patologías los resultados son alentadores, pero su aplicación a nivel industrial requerirá de otras aproximaciones más refinadas, como la selección genómica, que actualmente ya se aplica en animales domésticos tradicionales como vacuno o porcino. La información obtenida está siendo aplicada a nivel industrial para incrementar la tasa de crecimiento mediante la aplicación de selección asistida por marcadores.

El caso más notable, probablemente por la mayor sencillez de su arquitectura genética, es el de la determinación sexual. La búsqueda de QTLs relacionados con el sexo en rodaballo reveló una región fuertemente asociada con el sexo en todas las familias analizadas. El gen maestro determinante del sexo se localizó en la proximidad de un marcador microsatélite, el marcador Sma-USC30, cuyo genotipado permitió clasificar correctamente el 98.4% de los individuos en las familias analizadas. El análisis de segregación de este marcador demostró además, que el sexo de la progenie dependía del genotipo de la madre exclusivamente, no teniendo el padre aparentemente ninguna influencia. Esta observación es congruente con un mecanismo de determinación del sexo de tipo ZZ/ZW (machos ZZ y hembras ZW). Esta información ha sido clave para el desarrollo de una herramienta molecular para la determinación precoz del sexo en rodaballo utilizando el marcador Sma-USC30, cuya patente ha sido depositada. Tengamos en cuenta que la discriminación sexual en rodaballo no es posible hasta la madurez sexual (2-3 años). Partiendo de un pequeño fragmento de la aleta caudal del individuo de interés se extrae ADN, y mediante una PCR se amplifica el marcador Sma-USC30 para inferir su sexo.

Actualmente, esta herramienta está siendo aplicada en planes de selección genética con empresas del sector. Aunque el coste de la técnica es bajo (en torno a 1€), no es posible su utilización directa para seleccionar precozmente solo hembras para el cultivo, porque sería necesario además el marcaje individual de todos los peces (entre 2-3€ cada uno) hasta que se estableciera su genotipo. Esto comportaría un coste añadido que no compensaría la ganancia por el crecimiento superior de las hembras. Su aplicación, por tanto, tiene interés en planes de selección genética. La selección para crecimiento se realiza usualmente a partir de mezclas de familias antes del año de edad, momento en el que empezarían a manifestarse diferencias de crecimiento entre machos y hembras. Este es un dato empírico, que podría variar dependiendo de las familias. Además, el número de individuos seleccionados en cada grupo y, especialmente, en cada familia no es elevado, por lo que podría haber desviaciones importantes de las proporciones sexuales como consecuencia del muestreo. En estos programas, el genotipado para el marcador Sma-USC30 permitiría evaluar si la muestra seleccionada está compensada en cuanto a las proporciones sexuales. Sin embargo, la aplicación de mayor interés está en la obtención de poblaciones todo-hembras, combinando técnicas de reversión sexual con la información molecular del marcador. Esta técnica implica conseguir neomachos ZW utilizando metilttestosterona durante la etapa de desarrollo en que la gónada está aún indiferenciada. Estos neomachos serían machos fisiológicos (con testículos) pero hembras genéticas (productores de gametos Z o W). Una vez obtenidos los neomachos, se cruzarían con una hembra normal ZW, y de estos cruzamientos surgirían un 25% de superhembras WW. El cruzamiento de estas superhembras con machos normales (ZZ) daría lugar a progenies todo-hembras (ZW). La utilización del marcador Sma-USC30 permite identificar los neomachos y superhembras con una confianza elevada realizando únicamente una PCR, lo que supone ganar más de dos años en tiempo y a un coste mínimo por individuo para la consecución de poblaciones todo hembras. Lo interesante de esta metodología es que no se aplican en ningún caso hormonas en individuos a comercializar, tratándose únicamente sus abuelos.

En resumen, los recientes desarrollos genómicos realizados en rodaballo, han permitido el rápido desarrollo de una aplicación industrial para la detección precoz del sexo y para mejorar la tasa de crecimiento en planes de selección. En la actualidad, el grupo ACUIGEN está avanzando en la localización al gen maestro responsable de la determinación sexual y en la identificación de algunos genes clave asociados con el eje de crecimiento en los QTL detectados. La consecución del genoma de rodaballo representa, en este sentido, una herramienta esencial para avanzar en los desarrollos genómicos. Asimismo, el abaratamiento de costes para el genotipado de marcadores mediante las nuevas técnicas

de secuenciación permitirá rastreos mucho más eficientes y a un coste muy bajo, lo que posibilitará la identificación de asociaciones en numerosas familias para la detección de genes candidatos relacionados con caracteres productivos.