
OBJETIVO 2.3

Estudiar la genética de peces y moluscos: identificar secuencias y SNPs asociadas a caracteres productivos, y preservar los recursos genéticos de líneas seleccionadas.

Conexión con las líneas de actuación del plan nacional

Líneas de actuación A2: Acuicultura sostenible, inteligente y de precisión

Actuación A2.14: Estudios de genética de poblaciones de peces y moluscos, junto con el uso de técnicas de selección genética asistida, desarrollo de chips de SNPs multiespecie, genómica funcional, proteómica, y metagenómica para promover:

- I. La gestión sostenible de poblaciones naturales y en cultivo de peces, crustáceos y moluscos
- II. La selección de líneas o razas resistentes a factores de estrés ambiental y patógenos recurrentes y/o emergentes, o más eficaces en la eliminación de biotoxinas
- III. La trazabilidad a lo largo de toda la cadena de alimentaria
- IV. La conservación de la biodiversidad y variabilidad genética.

Descripción de tareas

Tarea 2.3.1 (M1-M45) - Identificación de SNPs asociados a caracteres productivos - Evaluación de la relación crecimiento-maduración en lubina. Análisis de asociación genética de SNPs a la maduración y crecimiento. Evaluación de panel SNP como método de diagnóstico molecular y su potencial aplicación multiespecie.

Participantes: CSIC2

Resultado: El objetivo de esta tarea es identificar SNPs (Polimorfismo de nucleótido único) asociados a caracteres productivos en la lubina, como la maduración y el crecimiento. Esto permitirá, localizar y caracterizar las regiones cromosómicas involucradas en el control de los mismos y, disponer de marcadores moleculares para su uso en programas de mejora y selección genética para esta especie. La búsqueda de polimorfismos asociados a la maduración ha permitido la identificación de un total de 1603 SNPs potenciales asociados con el carácter y que ahora necesitan validarse para confirmar la asociación genotipo-fenotipo. Actualmente se han seleccionado un total de 42 SNPs en base a su nivel de significación y los análisis de asociación se está llevando a cabo mediante el genotipado de SNPs usando la plataforma MassArray (Sequenom). Un total de 380 individuos procedentes de 5 cohortes se han analizado para este panel de 42 SNPs, lo que incluye un total de 285 machos inmaduros y 95 machos precoces que se han genotipado y analizado mediante el programa Genepop. De momento se han observado 13 posibles SNPs candidatos con una capacidad de asignación al carácter del 70%. Su validez está siendo analizada en las cohortes de referencia establecidas, pero no se descarta su corroboración en otras cohortes de lubina y aumentar el número de SNPs asociados al carácter.

Grado de consecución: 55%

Impacto: Se ha realizado una validación preliminar de un total de 13 marcadores SNPs seleccionados que muestran asociación al estado de maduración en la lubina (precocidad). Estudios adicionales esperan poder confirmar esta asociación y disponer de un panel de marcadores con capacidad de asignación al carácter >95% y de aplicación en programas de selección.

Tarea 2.3.2 (M1-M38) - Identificación de ejemplares cuyo esperma demuestre una especial resiliencia a los cambios de temperatura y de pH, y criopreservación de sus recursos genéticos - Puesta a punto de protocolos de congelación de esperma para 5 especies de peces objeto de estudio (anguila europea, atún rojo, dorada, lubina y lenguado). Se congelarán muestras de esperma (creación de un criobanco) de aquellos ejemplares más resistentes a temperaturas altas y/o valores de pH bajos. Se realizarán experimentos específicos para el análisis periódico de la supervivencia espermática a largo plazo (meses, años) para garantizar la viabilidad de los recursos genéticos criopreservados.

Participantes: CSIC2, UPV4

Colaboradores: CSIC1 & ICRA-IEO (Murcia)

Resultado: Se han revisado/optimizado los protocolos de congelación de esperma de anguila, dorada, lubina y lenguado. Se han probado diferentes concentraciones de crioprotectores, y el efecto de la dilución del esperma descongelado, en diluyente inactivador. El DMSO ha proporcionado los mejores resultados, y ha resultado positivo el incluir en el protocolo la dilución del esperma descongelado.

Se evaluó la calidad de muestras de esperma descongelado de las 4 especies, diluidas o no con NAM, y mantenidas a 4 °C. Con las condiciones adecuadas, el esperma de anguila y dorada se puede utilizar sin pérdida de calidad hasta 48 h después de la descongelación. Quedan pendientes las evaluaciones postcongelación de las muestras de lubina y lenguado, que ya han sido congeladas.

Se valoró la calidad del esperma de las 4 especies congelado en cápsulas biodegradables de gelatina o hipromelosa como recipientes alternativos a las pajuelas de plástico. Las cápsulas resultaron útiles para mantener la calidad espermática.

Usando el challenge test del efecto combinado de pH y temperatura se identificaron ejemplares de dorada, lubina y lenguado que produjeron muestras de esperma resilientes a los cambios de temperatura y de pH. Se creó un criobanco de muestras de esperma resilientes a altas temperaturas y bajo pH (dorada, 50 pajuelas; lubina, 30 y lenguado, 7 pajuelas) usando los protocolos puestos a punto.

Grado de consecución: 90%

Impacto: En cada especie se ha determinado cuál de los challenge tests (tarea 2.1.3) resulta más adecuado para identificar machos resilientes a los cambios de pH y temperatura. Estas herramientas se han utilizado para seleccionar los machos resilientes, y se ha creado un criobanco de muestras seleccionadas, que se ampliará en los periodos reproductivos de cada especie en 2024-25. Se han publicado 2 artículos.

Tarea 2.3.3 (M1-M45) - Genómica de chirla y tellina - Obtención de secuencias del genoma de la chirla y la tellina mediante secuenciación masiva para obtener un genoma y un transcriptoma de referencia, y aplicación a un estudio de la expresión génica asociada a las diferencias de supervivencia y crecimiento en cautividad.

Participantes: UPV10

Resultado: Secuenciación del genoma de la chirla: extracción de ADN de alto peso molecular y envío para secuenciación. Ya disponibles las secuencias obtenidas mediante Oxford Nanopore e Illumina. Se está realizando el HI-C, el ensamblaje y la anotación del genoma. Respecto a la secuenciación del genoma de *Donax* ha sido abordado por el proyecto Thinkinazul de Andalucía, RECLAM, y se colabora estrechamente con ellos en la obtención del transcriptoma y la expresión asociada a los experimentos de la Tarea 2.2.2.- (Estudio de la expresión génica mediante RNA-seq del efecto combinado de la temperatura del agua y la salinidad en la coquina (*Donax trunculus*)). Se está realizando el estudio de la expresión génica mediante RNA-seq del efecto de la temperatura del agua en la chirla.

Grado de consecución: 70%

Impacto: El hecho de tener disponibles el genoma de Chirla y Coquina es uno de los principales hitos de la tarea y abre un abanico de posibilidades de estudios para el aprovechamiento de ambas especies en el futuro. Se prepararán varias publicaciones conjuntamente con integrantes del proyecto “An integrated multidisciplinary approach to understand bivalve fisheries collapse and recovery” del Plan Complementario I+D+I de Ciencias marinas de Andalucía.

Tarea 2.3.4 (M1-M45) - Polimorfismos de DNA y QTL de chirla y tellina- Detección de SNPs a partir de las secuencias de la tarea 2.12, elaboración de mapas de ligamiento y estudio de familias para detección de QTLs de crecimiento y supervivencia.

Participantes: UPV10

Resultado: Con el avance en la tarea anterior respecto del genoma de Chirla, la semilla de chirla obtenida en 2023 en el IATS, se ha estudiado la estructura familiar de la progenie (tests de paternidad) usando microsatélites. Además, se está completando el estudio de contribución de progenitores sobre 300 individuos de la progenie de 2023. Y se está analizando la progenie para polimorfismos de ADN (SNPs), e intentar realizar un mapa de ligamiento que permita determinar las regiones específicas del genoma, o QTLs, relacionadas con la variabilidad entre individuos para caracteres biológicamente relevantes, como la determinación del sexo, la tasa de crecimiento y la viabilidad de larva a adulto. Se sigue trabajando en el genotipado de la progenie de 2023, 2024 y de muestras de población natural con microsatélites y SNPs, para asignación parental y determinación de la variabilidad genética. Quedan pendientes también la publicación de los resultados.

Grado de consecución: 60%

Impacto: Permitirá elaboración de mapas de ligamiento y estudio de familias para detección de QTLs de crecimiento y supervivencia frente a estresores como la temperatura y las olas de calor en el Mediterráneo. Se tiene prevista una publicación.