



Alliance

(<https://www.aquaculturealliance.org>)



Health & Welfare

Genotipado de ADN combinado con el método 2b-RAD para camarón blanco del Pacífico

Monday, 23 November 2020

By Juan Sui, Ph.D.

Los resultados muestran una técnica rentable para evaluar los programas de cría de camarones



Los resultados de este estudio muestran que el genotipado de ADN combinado podría ser una técnica rentable para evaluar los programas de reproducción de camarones. Foto de Darryl Jory.

El camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) es el camarón cultivado más importante del mundo, y representa más del 80 por ciento de la producción total de camarones peneidos cultivados. El desarrollo de programas de cría selectiva para camarones peneidos durante los últimos años ha mejorado significativamente el suministro y la calidad de líneas mejoradas de camarón, pero la complejidad y el gran tamaño del genoma [material genético completo de un organismo] de *L. vannamei* aumentan la dificultad de su secuenciación de ADN [proceso de determinación de la secuencia completa de ADN del genoma de un organismo en un solo momento] con métodos tradicionales.

El sistema convencional de cría por selección de animales acuáticos se basa en la familia, en el sentido de que utiliza una selección de rasgos múltiples (“retrato múltiple”) basada en la cría comunitaria de familias marcadas físicamente y registros de pedigrí. Se necesitaría marcar a miles de individuos por generación para realizar pruebas de múltiples retratos y entornos al mismo tiempo, y el proceso es costoso y laborioso. Y lo que es más importante, las familias deben criarse por separado hasta que se realice el marcado individual, lo que no solo ocupa un espacio significativo y afecta la tasa de crecimiento de los camarones, sino que también conduce a efectos ambientales comunes en la evaluación genética y también afecta la precisión de las estimaciones del valor de reproducción [el valor de un animal en un programa de cría para un rasgo particular].

El 2b-RAD es un método de genotipado para determinar diferencias en la estructura genética (genotipo) de un organismo al examinar la secuencia de ADN del individuo mediante ensayos biológicos y compararla con la secuencia de otro individuo o una secuencia de referencia. La simplicidad del protocolo 2b-RAD lo hace particularmente adecuado para el genotipado de alto rendimiento, según se requiera para el mapeo genético y el perfil de variación genética en poblaciones naturales.

Varios estudios recientes han ilustrado el potencial de los diseños experimentales combinados versus individuales para identificar y cuantificar marcadores genéticos, y han demostrado en varias especies que la secuenciación combinada del ADN podría generar una precisión y repetibilidad satisfactorias a un costo bastante menor que el de la secuenciación individual.

Este artículo, adaptado y resumido de la **publicación original** (<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0236343>), publicación original, informa sobre un estudio para aplicar la secuenciación 2b-RAD para comparar cuatro bibliotecas diferentes, pequeñas y agrupadas de hasta 53 camarones *L. vannamei* individuales, con secuenciación separada de cada animal, para evaluar 1) el efecto de la estructura de la población (diferente número de individuos y familias) sobre la secuenciación del ADN agrupado; 2) la precisión de la secuenciación parental de los conjuntos de ADN; y 3) el efecto de los números de SNP en la secuenciación del ADN combinado.

Configuración del estudio

Los animales utilizados en este estudio pertenecían a la cuarta generación de una población reproductora de camarones *L. vannamei* que se cultivó en Xinhai Aquatic Biological Technology Co., Ltd. (Provincia de Hebei, China). Se seleccionaron al azar 53 individuos de 10 familias para la construcción del conjunto de ADN. Dos de las 10 familias eran familias paternas de medio hermanos [medio hermanos o medio hermanas], y había un total de 19 padres de las 10 familias, incluidos nueve machos y 10 hembras. Los tejidos musculares de las 72 muestras (53 individuos y 19 padres) fueron disecados y procesados para varios análisis que condujeron a su eventual genotipado.

Para obtener información detallada sobre el diseño experimental; estrategia de aislamiento y agrupación de ADN; aislamiento de ADN, construcción y secuenciación de bibliotecas; genotipado y control de calidad; análisis de datos y verificación de la repetibilidad de la secuenciación del grupo, consulte la publicación original.

Resultados y discusión

En nuestro estudio, utilizamos el método de secuenciación 2b-RAD para evaluar la precisión de las estimaciones de frecuencia de alelos (genes) [frecuencia relativa de una variante de un gen en una ubicación particular en un cromosoma en una población] obtenidas de cuatro diferentes muestras agrupadas de ADN de camarones. Las frecuencias alélicas estimadas a partir del conjunto estaban altamente correlacionadas con las frecuencias alélicas "verdaderas" obtenidas de las muestras individuales, lo que mostró que el uso del método 2b-RAD para la secuenciación del ADN combinado produce resultados de gran precisión.

Varios estudios han reportado que el número de individuos y familias en el grupo tiene un impacto directo en la precisión de la estimación de la frecuencia de los alelos, y nuestros resultados apoyan esto. Estos estudios informaron que con un mayor número de individuos y familias en el grupo, la precisión de la frecuencia de los alelos, también conocida como estimación de la frecuencia de genes, aumentó. Y que cuando el número de individuos o familias era pequeño, la precisión se reducía pero seguía siendo bastante alta. En nuestro estudio, un grupo mixto de 15 individuos también alcanzó una alta concordancia entre las estimaciones de frecuencia de alelos derivadas de grupos de ADN y genotipos individuales. Por lo tanto, la secuenciación combinada de ADN puede lograr una alta precisión, y la precisión aumentaría con el número de individuos y familias.

En nuestra investigación, utilizamos un total de 28.882 de los marcadores genéticos llamados polimorfismos de un solo nucleótido, o SNPs [un marcador genético; una sustitución de un solo nucleótido (el bloque de construcción básico de ácidos nucleicos, ARN y ADN, donde se almacena la información genética) en una posición específica del genoma, que está presente en una fracción suficientemente grande de la población]. Descubrimos que el uso de diferentes números de SNPs (que varían de 500 a 28.800) no tuvo un impacto significativo en la precisión de nuestras secuencias de ADN agrupadas. No se encontró una correlación positiva entre el número de SNPs y la precisión de las secuencias de ADN agrupadas. Por lo tanto, menos SNPs también pueden lograr buenos resultados, pero los marcadores elegidos de manera óptima pueden aumentar el rendimiento.

Al final de nuestro estudio, probamos la reproducibilidad de la genotipificación de ADN combinada mediante 2b-RAD. Se realizaron tres repeticiones en dos piscinas compuestas por 30 individuos. Los resultados de las diferentes repeticiones fueron muy consistentes, lo que mostró que la confiabilidad del genotipado de ADN combinado por 2b-RAD era muy alta, al menos cuando el número de individuos en el grupo era relativamente pequeño.

El genotipado de ADN combinado se puede utilizar para estimar las contribuciones proporcionales de múltiples familias en una población de reproducción combinada, lo cual es bastante atractivo para los programas de reproducción selectiva de acuicultura de especies cultivadas de importancia comercial como el camarón, donde el valor de un solo individuo es relativamente bajo mientras que el número de familias son muy grandes. Sin embargo, todavía hay muchos factores que deben abordarse en la aplicación de la secuenciación de la combinación de ADN, como el método de secuenciación, el tamaño de la combinación y otros.

Perspectivas

Los resultados de nuestro estudio mostraron que el genotipado de ADN combinado utilizando el método de secuenciación 2b-RAD logró una alta precisión en el camarón blanco del Pacífico, y que la precisión aumentó con el número de individuos y familias en el grupo analizado.

Las frecuencias alélicas de los padres de cada grupo estaban altamente correlacionadas con las de los grupos o los individuos correspondientes en el grupo. El número de SNPs (500 a 28.800 SNPs) del estudio no tuvo un efecto significativo en la estimación de la frecuencia de los alelos en el ADN agrupado.

En general, nuestros datos y resultados indican que el genotipado de ADN combinado podría ser una técnica rentable para ayudar a evaluar el desempeño de los programas de reproducción de camarones.

Author



JUAN SUI, PH.D.

Corresponding author

Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, China, Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao, China

Nota del editor: este artículo tiene ocho coautores, reconocidos en las etiquetas del artículo a continuación y en la publicación original.

suijuan@ysfri.ac.cn (<mailto:suijuan@ysfri.ac.cn>).

Copyright © 2016–2020 Global Aquaculture Alliance

All rights reserved.