CENAIM INFORMA

Boletín Informativo No 114 15 de Octubre del 2004

RESUMEN TESIS DE POST-GRADO DE ESTUDIANTES DE MAESTRIA EN ACUICULTURA

"Desarrollo de Marcadores Genéticos tipo microsatélites e intrones para mapeo genético en *Litopenaeus vannamei*"

Estudiante: Juan Cristóbal Ortiz Tirado
Director: Franklin Perez, M.Sc.

Mediante el minado de datos (Data Mining), se analizaron secuencias EST (Expressed Sequence Tags) públicamente disponibles para *L. vannamei*. La identificación de SSR(Simple Sequence Repeat) en ESTs así como la homologación de ESTs contra el genomio completo de *D. melanogaster* generaron un total de 459 pares de primers. Su evaluación con varias especies de camarón (*L.vannamei, L stylirostris, F. californiensis, F.duorarum y T byrdi),* permitió obtener marcadores polimórficos útiles para mapeo genético en *L. vannamei*. Se encontró que 3.8% de los ESTs evaluados contenían repeticiones tipo microsatélite con una frecuencia de 1 repetición cada 7.8 kb. Doscientos ochenta y seis primers fueron diseñados para SSR – ESTs y 173 primers para intrones previa homologación con 7,439 secuencias de ESTs y cDNA contra el genomio de *D. melanogaster*. Se obtuvieron productos amplificados para 129 loci con SSR – ESTs y 53 loci con intrones . Un alto porcentaje (56%) de EST– SSRs y (38%) intrones fueron transferibles dentro del genero *Litopenaeus*. Más de la mitad de los productos amplificados fueron polimórficos en un pequeño panel de prueba de *L. vannamei*. Evaluación de SSR- ESTs en un panel de prueba compuesto por animales silvestres mostró que el 72% de los marcadores cumplen con el equilibrio Hardy-Weinberg, indicando su utilidad en análisis de genética de poblaciones. El número de alelos fue de 2 – 24 con un promedio de 6.2. Adicionalmente un set de 28 SSR- ESTs y 17 intrones fueron evaluados por Segregación Mendeliana. Evidencia de alelos nulos se encontró en 5 de ellos. Un alto porcentaje de marcadores SSR- ESTs monomórficos (44%) y moderado en intrones(25%), mostraron ser polimórficos en un análisis de SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). Microsatélites e intrones polimórficos obtenidos en ésta investigación podrán ser usados en mapeo genético y estudios de poblaciones tanto en *L. vannamei* como en otras especies de camarón. El minado de datos en base de datos públicos son una alternativa tecnológica que permite la generación de marcadores codominantes a bajo costo y en cantidades superiores a los obtenidos con técnicas tradicionales.

"Relación entre el fitoplancton y el bacterioplancton bajo dos regímenes de fertilización en mesocosmos con presencia de sedimentos"

ESTUDIANTE: Edgar López Landavery
DIRECTOR: Laurence Massaut, Ph.D.

Se estudió el efecto de la fertilización sobre la relación fitoplancton – bacterioplancton a través de dos experimentos con duración de 30 días cada uno, utilizando 24 tanques de una tonelada llenados con agua del canal reservorio de la estación experimental del CENAIM en Palmar (Provincia del Guayas, Ecuador). El diseño fue factorial 2x2 y completamente aleatorizado, con el primer factor correspondiendo al efecto fertilización con dos niveles y el segundo factor a la presencia o ausencia de una capa de sedimento (5-8 cm) en el fondo de los tanques. En el primer experimento, 12 tanques recibieron dos aplicaciones semanales de urea (1.0 mg N/L) y fosfato diamónico (0.1 mg P/L) manteniendo una relación 10N:1P. Durante el segundo experimento, 12 tanques recibieron cada día 1.0 g de alimento balanceado (~ 7N:1P). La aplicación de fertilizantes inorgánicos incrementó las concentraciones de clorofila *a* ($p<0.01$) que alcanzaron máximos en la segunda y cuarta semana (104 y 109 µg/L, respectivamente) y los conteos de bacterias totales ($p<0.01$) que alcanzaron valores máximos en la tercera semana ($37x10^3$ células/mL). El análisis de regresión múltiple indicó que el fitoplancton respondió principalmente a la adición de N y las bacterias a la adición de P y N. El fitoplancton fue dominado por representantes pequeños de las cianobacterias (*Synechoccocus* spp.), característicos de ambientes eutróficos y resistente a la depredación por parte de los copépodos que dominaron el zooplancton al final del experimento. Se encontró una correlación positiva entre fitoplancton y bacterioplancton, indicando la dependencia de la producción bacteriana sobre el carbono orgánico generado por el fitoplancton. Los conteos de *Vibrio* spp. fueron positivamente relacionados con la concentración de nitrógeno disuelto, sugiriendo una respuesta positiva a la acumulación de materia orgánica disuelta en los mesocosmos. A pesar de las adiciones de nutrientes inorgánicos, no se encontró acumulación de P en los sedimentos y se sugiere que el fitoplancton y las bacterias fueron la ruta principal de remoción del N y P adicionados con los fertilizantes. Durante el segundo experimento, la adición de alimento incrementó las concentraciones de fitoplancton ($p<0.01$), de bacterias totales ($p<0.01$), de *Vibrio* spp. ($p<0.01$) y de zooplancton ($p<0.01$). Las concentraciones de zooplancton fueron más altas que en el experimento de fertilización inorgánica y se mantuvieron altas hasta el final del experimento, soportando que el zooplancton puede aprovechar directamente el alimento. El análisis de regresión múltiple indicó que el fitoplancton respondió a la adición de N y P y las bacterias a la adición de P. La mineralización de la materia orgánica por parte de las bacterias incrementó las concentraciones de nutrientes inorgánicos que fueron aprovechados por el fitoplancton, lo que evitó el incremento de materia orgánica y P en el suelo. *Vibrio* spp. alcanzaron sus máximos al final del experimento, coincidiendo con la biomasa máxima de cianobacterias, soportando que un incremento en *Vibrio* spp. podría esperarse como resultado del incremento en la población de cianobacterias.