CENAIM INFORMA

Boletín Informativo No 92 15 de Noviembre del 2003

Por Franklin Perez, Ph.D..
Investigador Genética

DESARROLLO DE MARCADORES MOLECULARES TIPO MICROSATELITE EN CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei* PARA MEJORAMIENTO GENETICO.

La implementación de programas de mejoramiento genético ha sido posible en Ecuador utilizando diferentes esquemas de selección. La selección masal, que consiste en seleccionar los animales más grandes de una piscina comercial, es el sistema más barato para lograr mejoras en crecimiento. La ganancia por ciclo de selección en ese esquema está relacionado directamente con la presión de selección utilizada: mientras más elevada, mayor la ganancia genética. Sin embargo existe una relación inversa entre la variabilidad genética –cuantos individuos diferentes aportan sus genes- y la presión de selección. En un programa de selección masal mientras mayor presión de selección usemos mayor será nuestra ganancia, pero a su vez disminuiremos la variabilidad genética. El querer seleccionar en un grupo sin variabilidad genética es el equivalente a esperar mejora genética por selección en un grupo de individuos clonales, donde todos son iguales genéticamente. Las diferencias que se verían entre individuos de ese grupo se deberían al medio ambiente y no a los genes, por tanto la selección genética no daría ninguna ganancia.

Aun con una presión de selección muy alta es posible seleccionar animales de diferente contenido genético aunque en muy baja proporción. La mayoría de los animales seleccionados pertenecerán a unas pocas familias. Si no contamos con información de lineaje, los cruces que se generen darán en su mayor parte hijos con alta consanguinidad producto del cruzamiento entre hermanos. En el caso del camarón blanco se ha demostrado que la consanguinidad es negativa para caracteres asociados a producción. Por tanto en un programa de mejoramiento debe evitarse a toda costa cruces entre individuos emparentados.

En cambio si contamos con información sobre las relaciones familiares entre los reproductores de un programa de mejoramiento podemos determinar que cruces deben realizarse y así evitamos la consanguinidad. Un programa de selección por familias justamente hace este trabajo pero a un costo elevado para condiciones locales. El método ideal de selección consistiría en manejar los animales bajo un esquema de producción comercial, seleccionar a alta presión y generar información de lineaje para dirigir los cruces entre individuos no emparentados en maduración.

El ADN es la molécula que contiene la información genética para el funcionamiento de todo ser vivo. Al se transmitida de padres a hijos esa información es compartida entre individuos emparentados. Marcadores moleculares, equivalentes a barras de códigos –como las utilizadas para la identificación computarizada de productos-, pueden ser generados mediante técnicas modernas de Biología Molecular. El análisis de ADN permite estudiar un amplio rango de problemas biológicos utilizando la información contenida dentro de cada individuo.

Entre los diferentes tipos de marcadores moleculares disponibles tenemos los microsatélites que son secuencias repetitivas de ADN. Estos marcadores moleculares son utilizados en pruebas de paternidad y lineaje en humanos, tales como las que se cumplen en la Cruz Roja local. Secuencias de microsatélites están presentes en el ADN del camarón y para ser utilizadas en pruebas de lineaje es necesario desarrollar protocolos de amplificación mediante PCR. CENAIM lleva adelante una investigación dirigida al desarrollo de microsatélites en camarón blanco y su uso en selección genética con el auspicio económico de FUNDACYT.

METODOLOGIA

Para desarrollar iniciadores de PCR dirigidos a microsatélites en camarón blanco se procedió a evaluar secuencias de la especie depositadas en NCBI (Base de datos que contiene secuencias públicas de ADN en diferentes especies). Las secuencias fueron analizadas con el programa Fast PCR para ubicación de zonas repetitivas. Secuencias conteniendo motivos tipo microsatélite fueron utilizadas para diseño de iniciadores con el software Primer 3. Los iniciadores fueron construidos en un laboratorio Canadiense y evaluados bajo condiciones locales en animales silvestres y cultivados.

RESULTADOS

De los 140 juegos de primers evaluados inicialmente se encontraron 8 que con alto polimorfismo (mostrando diferentes formas útiles para las pruebas de lineaje) y capacidad de amplificación. En la tabla 1 se presentan las características de los microsatélites desarrollados. En la figura 1 se presenta una amplificación con uno de los microsatélites generados en dos grupos de 10 hermanos provenientes de una familia de camarón.

La implementación de la técnica de microsatélites para camarón a nivel local es el primer paso para la optimización del esquema de selección masal. La validación de los microsatélites generados en este trabajo será presentada en una entrega posterior.

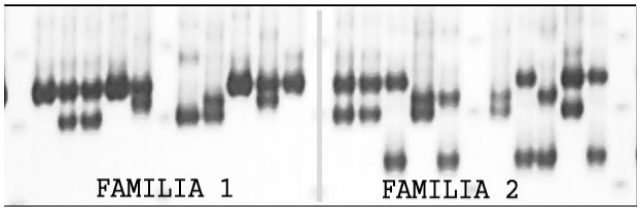

Fig. 1. Bandas de microsatélites amplificados con el primer CN-67 en dos familias de camarón blanco, L. vannamei. Nótese las bandas compartidas entre los diferentes hermanos de una misma familia.CENAIM 2003.

LOCUS	PRIMER FORWARD	TEMPERATURA	Cl2Mg	ENTRADA NCBI
CN-54	F: TGCTTGTGAAGGTGTGTGAACGTG	43	1	AF360040
CN-67	F: GAAGAGGCAGGGCGGATTT	51	2	AF360007
CN-84	F: GGGTTATGATGACCAAAG	59	2	AF360114
CN-135	F: ATAATGCGAGCGTGAG	43	2	AF359979
CN-142	F: TGCTACGCCGACAATG	43	2	AF360029
CN-148	F: CATCATCGCTAAAATT	43	2	AF360051
CN-159	F: AAGAACGAAGTGGAGGAG	47	2	AF360109
CN-160	F:AAGGGCAATCGAAGAAG	51	1.5	AF360109

Tabla 1. Microsatélites desarrollados en CENAIM. Se indica la secuencia del iniciador hacia delante, la temperatura y concentración de Cloruro de Magnesio y la entrada de la secuencia almacenada en el Banco de Datos del NCBI a partir del cual se diseñó el juego de iniciadores específicos.