

## EN LA BÚSQUEDA DE HERRAMIENTAS GENÉTICAS PARA LA TRAZABILIDAD DE DORADAS SALVAJES VS. CULTIVADAS

Antonio Vallecillos<sup>1\*</sup>, Kilian Toledo-Guedes<sup>2</sup>, Eva Armero<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Area de producción animal, Departamento de ingeniería agronómica, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, 30203 Cartagena, España.

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias del Mar y Biología Aplicada, Universidad de Alicante, Edificio ciencias V, San Vicente del Raspeig 03690 Alicante, España.

### Abstract

The study proposes the identification of genetic markers to differentiate between wild and captive-bred gilthead sea bream, as well as distinguishing between different populations of gilthead sea bream. A nucleus of wild breeders and two batches of young gilthead sea bream will be used: one wild and one raised in aquaculture cages. DNA extraction will be performed from the caudal fins, followed by quantification and integrity analysis. Two multiplex PCRs containing 11 microsatellites each will be used for genotyping all DNA samples, resulting in genotyping for 22 microsatellite markers. Additionally, genomic DNA sequencing and bioinformatic analysis will be carried out for a subset of 60 animals to further characterize genetic differences. As for phenotypic characterization, the batches of young gilthead sea bream will be sacrificed to measure growth characteristics, morphology, canal quality, and meat quality. The study is based on previous scientific references, including multiplex PCR methodologies, DNA sequencing, bioinformatics analysis, as well as analysis of meat quality and fatty acid profiles in fish. The ultimate goal is to establish genetic markers and phenotypic characteristics to differentiate between wild and captive-bred gilthead sea bream, as well as to characterize gilthead sea bream populations in the Mediterranean Sea.

### Resumen

El estudio propone la identificación de marcadores genéticos para diferenciar entre doradas salvajes y criadas en cautividad, así como para distinguir entre diferentes poblaciones de doradas. Se utilizará un núcleo de reproductores salvajes y dos lotes de doradas jóvenes: uno salvaje y otro criado en jaulas de acuicultura. La extracción de ADN se realizará de las aletas caudales, seguida de su cuantificación y análisis de integridad. Se utilizarán dos PCR multiplex que contienen 11 microsatélites cada una para el genotipado de todas las muestras de ADN, lo que resultará en el genotipado de 22 marcadores microsatélites. Además, se llevará a cabo la secuenciación del ADN genómico y su análisis bioinformático para un subconjunto de 60 animales, con el objetivo de caracterizar aún más las diferencias genéticas. En cuanto a la caracterización fenotípica, se sacrificarán los lotes de doradas jóvenes para medir características de crecimiento, morfología, calidad del canal y de la carne. El estudio se fundamenta en referencias científicas previas, incluyendo metodologías de PCR multiplex, secuenciación de ADN y análisis bioinformáticos, así como análisis de calidad de carne y perfil de ácidos grasos en peces. El objetivo final es establecer marcadores genéticos y características fenotípicas que permitan diferenciar entre doradas salvajes y criadas en cautividad, caracterizar las poblaciones de doradas en el Mar Mediterráneo, así como identificar peces escapados desde instalaciones de acuicultura en capturas de la pesca extractiva.

### Introducción

La dorada (*Sparus aurata*) es la tercera especie de mayor producción en acuicultura en España, ya que supuso el 95,8% del total de la oferta en el mundo, frente al 4,2% de la pesca extractiva (APROMAR, 2023). Uno de los principales problemas que tiene el consumidor es la trazabilidad de la especie, que, en ocasiones, provoca que se tengan dudas sobre la procedencia (cultivada vs. salvaje) de las doradas que llegan a los puntos de venta. Esta problemática se potencia por la ocurrencia de escapes masivos y la entrada en el mercado de doradas procedentes de instalaciones de acuicultura capturadas por la pesca extractiva y etiquetadas como salvajes, afectando a las poblaciones salvajes en la competencia por el alimento, la transferencia de parásitos y enfermedades (Grigorakis and Rigos 2011). Este último punto es particularmente importante en casos en los que los peces de cultivo son genéticamente divergentes porque provienen de diferentes áreas geográficas o han sido domesticados (Segvić-Bubić *et al.*, 2014). Varias décadas de eventos de escape en las poblaciones silvestres de dorada en el Mar Adriático, han provocado cambios genéticos en numerosas poblaciones silvestres como resultado de la introgresión genética de peces de cultivo (Segvić-Bubić *et al.*, 2014). Es por ello por lo que hemos de tener en cuenta, que estos escapes de las jaulas pueden llegar a producir un aumento de la diversidad genética y/o la descomposición de los complejos genéticos adaptados localmente, reduciendo así la capacidad competitiva y la aptitud general (Segvić-Bubić *et al.* 2017). Una de las herramientas que nos pueden dar unos conocimientos sobre las

poblaciones, son los marcadores microsatélites (Lee-Montero *et al.* 2013). El objetivo del presente estudio es establecer marcadores genéticos y características fenotípicas que permitan diferenciar entre doradas salvajes y criadas en cautividad, así como caracterizar las poblaciones de doradas en el Mar Mediterráneo.

### **Materiales y métodos**

Para llevar a cabo este estudio se van a utilizar reproductores salvajes (ReproWild, n=27), pertenecientes al Instituto Español de Oceanografía (Planta de Cultivos de Mazarrón), que provienen del Mar Mediterráneo y que nunca han sido seleccionados. Además, se emplearán dos lotes de doradas jóvenes de tamaño comercial: uno salvaje (YoungWild, n = 150) procedente del Mar Mediterráneo, y otro lote proveniente de jaulas de engorde de acuicultura (YoungCage, n = 150). Para todos los individuos se realizará la extracción de ADN de la aleta caudal mediante el kit DNeasy (QIAGEN®), seguida de su cuantificación mediante NanoDrop™ y Qubit. La integridad del ADN se verificará mediante un gel de agarosa al 1% con visualización mediante tinción con bromuro de etidio bajo iluminación UV. Las muestras se conservarán a -80°C para análisis posteriores.

Para el genotipado, se llevará a cabo el uso de dos PCR multiplex, cada una compuesta por 11 microsatélites, como se describe en Lee-Montero *et al.* (2013), denominadas SMSa1 y SMSa2 (SuperMultiplex *Sparus aurata*), lo que resultará en el genotipado de 22 marcadores microsatélites para un total de 327 doradas. Además, se realizará la secuenciación del ADN genómico y su análisis bioinformático según el protocolo descrito por Suárez-Mesa *et al.* (2023), utilizando un mínimo de 20 Gb de datos de secuenciación por muestra, con un total de 60 animales, distribuidos en grupos de 20 animales cada uno.

Los lotes de doradas jóvenes (n=300) serán sacrificados para la medición de caracteres de crecimiento (peso y talla) y morfología del pescado utilizando IMAFISH. También se evaluará la calidad del canal (rendimiento canal y rendimiento filete) y de la carne (contenido de humedad, grasa y proteína, así como el perfil de ácidos grasos), según el método descrito por Vallecillos *et al.* (2023).

### **Palabras clave**

Dorada (*Sparus aurata*); Secuenciación; Escapes; Microsatélites.

### **Bibliografía**

APROMAR. La Acuicultura en España; 2023. Disponible online: <http://www.apromar.es/>

Grigorakis, K., Rigos, G. 2011. Aquaculture effects on environmental and public welfare – The case of Mediterranean mariculture. *Chemosphere*. 855, 899-919. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.015>

Lee-Montero, I., Navarro, A., Borrell, Y., García-Celdrán, M., Martín, N., Negrín-Báez, D., Blanco, G., Armero, E., Berbel, C., Zamorano, M.J., Sanchez, J.J., Estévez, A., Ramis, G., Manchado, M., Afonso, J.M., 2013. Development of the first standardized panel of two new microsatellite multiplex PCRs for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Anim. Genet.* 44, 533–546. <https://doi.org/10.1111/age.12037>

Suárez-Mesa, R., Ros-Freixedes, R., Laghouaouta, H., Pena, R.N., Hernández-Ortiz, B., Rondón-Barragán, I., Estany, J. 2023. Identification of breed-specific genomic variants in Colombian Creole pig breeds by whole-genome sequencing. *Tropical Animal Health and Production* 154, 55, 1573-7438, <https://doi.org/10.1007/s11250-023-03557-9>

Segvic-Bubic, T., Talijancic, I., Grubisic, L., Izquierdo-Gomez, D., Katavic, I. 2014. Morphological and molecular differentiation of wild and farmed gilthead seabream *Sparus aurata*: implications for management. *Aquaculture Environment Interactions*, 6: 43–54. <http://dx.doi.org/10.3354/aei00111>

Segvic-Bubic, T., Grubisic, L., Trumbic, Z., Stanic, R., Ljubkovic, J., Marsic-Lucic, L., Katavic, I. 2017. Genetic characterization of wild and farmed European seabass in the Adriatic Sea: assessment of farmed escapees using a Bayesian approach. *Journal of Marine Science* 74(1), 369-378. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw155>

Vallecillos, A.; María-Dolores, E.; Villa, J.; Afonso, J.M.; Armero, E., 2023. Potential Use of Image Analysis in Breeding Programs for Growth and Yield Traits in Meagre (*Argyrosomus regius*). *Journal of Marine Science and Engineering*. 11, pp. 2067. <https://doi.org/10.3390/jmse11112067>

### **Agradecimientos**

Este estudio forma parte del programa THINKINAZUL que ha sido financiado por MCIU con fondos NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) y por la Fundación Séneca con fondos de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (CARM). Este estudio forma parte del programa ThinkInAzul, apoyado por el MCIN con financiación de fondos NextGenerationEU de la Unión Europea (PRTR-C17.I1) y por la Generalitat Valenciana (THINKINAZUL/2021/044-TOWARDS).

\*[antonio.vallecillos@edu.upct.es](mailto:antonio.vallecillos@edu.upct.es)