



## Acuicultura

### Temario de curso

Adscripción	
Programa de posgrado	Acuicultura
Orientación	N/A
Fecha de registro en el DSE	20/03/2014

Información del curso		
Nombre del curso		
<b>Técnicas modernas de análisis genéticos y sus aplicaciones en acuicultura</b>		
Periodo lectivo	Tipo	
Cuatrimestre II (abril-agosto)	Optativo	
Cursos previos		
Genética ó Biología molecular		
Créditos	Horas de teoría	Horas de laboratorio
4	8	48
Elaborado por		
Dra. Fabiola Lafarga De la Cruz		
Aprobado en reunión de Consejo de Programa de Posgrado (CPP)		
19/03/2014		

Objetivos generales
Proveer al alumno las bases de las técnicas moleculares para el análisis genético y sus aplicaciones diversas en el estudio de organismos acuáticos.



## Acuicultura

### Contenido temático

#### 1. Introducción.

- 1.1. Presentación: temario curso, forma de evaluación y dinámica de trabajo
- 1.2. Reglamentos para el trabajo en el laboratorio de Genética en Acuicultura
- 1.3. Cuidados, precaución y forma de trabajo en laboratorios de biología molecular
- 1.4. Importancia y formatos de bitácoras para estudios genéticos

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 1**

#### 2. Práctica 1: Criterios para la toma de muestras de organismos acuáticos.

- 2.1. Generalidades
- 2.2. Tipos de muestras genéticas: gametos, embriones, larvas y tejidos
- 2.3. Protocolos de preservación y conservación de muestras genéticas y material genético (ADN/ARN).

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 1**

#### 3. Práctica 2: Extracción de ADN en diversos tejidos preservados.

- 3.1. Generalidades
- 3.2. Protocolo de extracción de ADN (sesión uno)
- 3.3. Análisis de calidad (integridad) del ADN extraído por electroforesis en geles de agarosa (sesión dos)
- 3.5 Análisis de cantidad y pureza del ADN extraído por espectrofotometría (sesión dos)

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 8**

#### 4. Práctica 3: Identificación de especies mediante PCR de genes conservados.

- 4.1. Generalidades
- 4.2. Dilución de DNA genómico (50 ng/uL)
- 4.3. PCR de los genes conservados en invertebrados marinos
- 4.4. Electroforesis en gel de agarosa para visualizar los productos de PCR (determinación del éxito de PCR y tamaño de fragmentos obtenidos)
- 4.5. Análisis de secuencias de estos genes depositados en GENE BANK –(GENEIOUS, MEGA, CLC MAIN WORKBENCH)

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 8**

#### 5. Práctica 4: Identificación de híbridos de abulón mediante RFLP-PCR.

- 5.1. Generalidades de la técnica RFLP-PCR
- 5.2. Obtención de la muestra de diferentes especies de abulones y sus híbridos interespecíficos
- 5.3. Amplificación de secuencias parciales del gen VERL (receptor de lisina en la envoltura vitelina y gen COI (ADNmt) por PCR (sesión uno)
- 5.4. Visualización de amplicones obtenidos en electroforesis en gel de agarosa (sesión dos).
- 5.5. Digestión de los productos de PCR con enzimas de restricción específicas (RFLP-PCR) de secuencias parciales del gen VERL y COI (sesión tres).
- 5.6. Determinación del patrón de bandeo mediante electroforesis en gel de agarosa (sesión tres)

## Acuicultura

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 12**

### 6. Práctica 5: Determinación de diversidad genética de poblaciones de abulón rojo mediante marcadores microsatélite (SSR).

- 6.1. Generalidades de la teoría de genética poblacional y uso de marcadores SSR
- 6.2. Obtención de muestras
- 6.4. Amplificación de 8 loci SSR por PCR (sesión uno)
- 6.5. Confirmación de amplificación exitosa por electroforesis en gel de agarosa (sesión dos)
- 6.5. Análisis de fragmentos de PCR en electroforesis en geles de poliacrilamida (sesión tres)
- 6.6. Genotipificado de las muestras (asignación de alelos; sesión tres)
- 6.7. Construcción de matriz de datos (EXCEL, CREATE; sesión cuatro)
- 6.8. Corrección de datos de genotipificado (MICROCHECKER y ML-NULLFREQ; sesión cuatro)
- 6.9. Análisis de datos para determinar diversidad genética (ARLEQUIN y FSTAT; sesión cuatro)

**Horas de teoría: 1**

**Horas de laboratorio: 16**

### 7. Plataformas de secuenciación masiva.

- 7.1. Teoría de la secuenciación Sanger y de las nuevas plataformas de secuenciación masiva
- 7.2. Generación de bases de datos de secuenciación masiva
- 7.3. Paquetes bioinformáticos para el análisis de secuenciación masiva (ensamblaje, mapeo, identificación de marcadores moleculares tipo SSR y SNPs, anotación)

**Horas de teoría: 2**

**Horas de laboratorio: 2**

### Criterios y mecanismos de evaluación

#### Actividades a evaluar:

- 2 Exámenes parciales 40%
- 7 Reportes de prácticas de laboratorio 20%
- 1 Libreta de trabajo (Bitácora) 10%
- 1 Trabajo de investigación final 20%
- Tareas 5%
- Participación en clase y prácticas de laboratorio 5%

### Otros

Los estudiantes deberán traer bata limpia y cabello recogido a todas las sesiones de laboratorio. Los estudiantes deberán contemplar tiempos extra-clase para asesorías y presentación de trabajos finales.

Dadas las limitaciones de espacio del Laboratorio de Genética en Acuicultura, el cupo del curso está limitado a 6 estudiantes como máximo con la finalidad de que puedan hacer las prácticas de forma individualizada.

### Referencias bibliográficas

Amar-Basulto G., F. Lafarga-De la Cruz, P. Iturra-Constant, & C. Gallardo-Escarate. 2011. "Karyotype analysis of interspecific hybrids between *Haliotis rufescens* and *Haliotis discus hannai*". *Aquaculture Research*, 1-7 (doi:10.1111/j.1365-2109.2010.02738.x).

## Acuicultura

- Asensio-Gil, Luis. 2007. PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science & Technology*, 11 (18): 558-566.
- Bartley, D., K. Rana & A. Immink. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 10, 325-337.
- Beaumont, A.R. & K. Hoare. 2003. *Biotechnology and Genetics in Fisheries and Aquaculture*. Blackwell Science. Oxford, UK. 158 pp.
- Carr N. A. & S. A. Appleyard. 2008. Using FTAs Elute MicroCards to address biosecurity and DNA quality issues in abalone aquaculture. *Aquaculture Research*, 1- 4 (doi:10.1111/j.1365-2109.2008.02055.x).
- Chauhan, T. & K. Rajiv. 2010. Molecular markers and their application in fisheries and aquaculture. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 1: 281-291.
- Coombs J. A., B. H. Letcher & K. H. Nislow. CREATE: Software to create input files from diploid genotypic data for 52 genetic software programs. *Molecular Ecology Resources* 8, 578-580 (doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.02036.x).
- Díaz-Viloria, N., P. Cruz, S. A. Guzmán-Del Próo & R. Perez-Enriquez. 2009. Genetic connectivity among pink abalone *Haliotis corrugata* populations. *Journal of Shellfish Research* 28, 599-608.
- Díaz-Viloria, N., R. Pérez-Enríquez, G. Fiore-Amaral, R. S. Burton & P. Cruz. 2008. Isolation and cross-amplification of microsatellites in pink abalone (*Haliotis corrugata*). *Molecular Ecology Resources* 8, 701 - 703.
- Espinoza-de los Monteros J. & U. Labarta (Eds.) 1987. *Genética en acuicultura*. Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica. Mundi-Prensa Libros, S.A. Madrid, España. 274 pp.
- Excoffier, L., G. Laval & S. Schneider. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47 - 50.
- Galindo, B. E., G. W. Noy, W. J. Swanson & V. D. Vacquier. 2002. Full-length sequence of verl, the egg vitelline envelope receptor for abalone sperm lysin. *Gene* 288, 111 - 117.
- Goudet, J. 1995. FSTAT (version 2.9.3): A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity* 86:485 - 486.
- Kalinowski, S. T. & M. L. Taper. 2006. Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conservation Genetics* 7:991 - 995.
- Kucuktas, H. & Z. Liu. 2007. Allozyme and Mitochondrial DNA Markers. En: Liu, Z. (Ed.). *Aquaculture genome technologies*. Chapter 7. p. 73-85. 1<sup>st</sup> Edition. Blackwell Publishing. 551 pp.
- Lafarga-De la Cruz F., G. Amar-Basulto, M. A. Del Río-Portilla & C. Gallardo-Escarate. 2010. Genetic analysis of an artificially produced hybrid abalone (*Haliotis rufescens* x *Haliotis discus hannai*) in Chile. *Journal of Shellfish Research* 29(3), 717-724.
- Lafarga-De la Cruz F., M.A. Del Río-Portilla & C. Gallardo-Escarate. 2010. Genetic variability of cultured populations of red abalone *Haliotis rufescens* in Chile: an approach based on heterologous microsatellites. *Journal of Shellfish Research* 29(3), 709-715.
- Liu, Z.J. & Cordes J.F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 23: 1-37.
- Liu, Z.J. 2007. Concept of Genomes and Genomics. En: Liu, Z.J. (Ed.). *Aquaculture genome technologies*. Chapter 1. p. 1-8. 1<sup>st</sup> Edition. Blackwell Publishing. Oxford, UK. 551 pp.
- Lutz, G.C. 2001. *Practical Genetics for Aquaculture*. Fishing News Books, Blackwell Science. Oxford, UK. 235 pp.
- McAndrew, B. & J. Napier. 2010. Application of genetics and genomics to aquaculture development: current and future directions. *Journal of Agricultural Science*, 1-9.
- Oosterhout, C. V., W. F. Hutchinson, D. P. M. Wills & P. Shipley. 2004. Micro-checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4:535 - 538.
- Robinson, T.R. 2005. *Genetics for dummies*. Wiley Publishing, Inc. Hoboken, NJ. 368 pp.