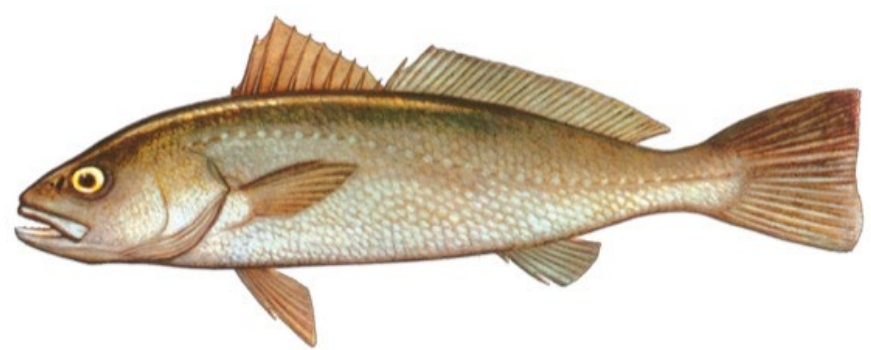


Περίληψη

Ο κρانيός είναι ένα είδος που παρουσιάζει μεγάλο εμπορικό ενδιαφέρον για τις υδατοκαλλιέργειες. Λόγω της πρόσφατης ένταξής του σε συνθήκες καλλιέργειας η μελέτη γενετικών παραμέτρων για οικονομικά σημαντικούς χαρακτήρες του είδους δεν είναι ιδιαίτερα εκτεταμένη. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να μελετηθεί η οικογενειακή διαμόρφωση και η γονική συνεισφορά 13 γεννητόρων κρانيού και 1200 απογόνων τους από ένα επεισόδιο μαζικής αναπαραγωγής, καθώς και η εκτίμηση γενετικών παραμέτρων για το βάρος και το μήκος σε διαφορετικές ηλικίες. Μελετήθηκαν οι συγγενικές σχέσεις μεταξύ γονέων και απογόνων με τη χρήση ενός multiplex 12 μικροδορυφορικών τόπων, που επέτυχε ποσοστό ανάθεσης 71,8%. Παρατηρήθηκε ανισορροπία στην κατανομή των απογόνων σε οικογένειες και συνεπώς άνιση γονική συνεισφορά. Οι εκτιμώμενες τιμές του συντελεστή κληρονομησιμότητας ήταν αρκετά υψηλές για όλους τους υπό μελέτη φαινοτύπους, παρουσιάζοντας ανοδική τάση με την αύξηση της ηλικίας. Επιπλέον, υψηλές ήταν και οι εκτιμώμενες τιμές γενετικής συσχέτισης μεταξύ βάρους και μήκους και στις δύο ηλικίες που μελετήθηκαν, ενώ χαμηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν για το βάρος μεταξύ διαφορετικών ηλικιών. Οι εκτιμήσεις παρουσίασαν υψηλές τιμές τυπικών σφαλμάτων, οπότε κρίνεται σημαντική η μελλοντική μελέτη ενός μεγαλύτερου δείγματος για την απόκτηση ακριβέστερων εκτιμήσεων.

Εισαγωγή

- Το είδος *Argyrosomus regius* ανήκει στην οικογένεια *Sciaenidae* κι αποτελεί έναν πολύ καλό υποψήφιο για υδατοκαλλιέργειες λόγω της σχετικά εύκολης διαχείρισης των γεννητόρων και της εκτροφής των νυμφών του, της γρήγορης αύξησης του και του καλού συντελεστή μετατρεψιμότητας τροφής που παρουσιάζει (Duncan et al. 2013).
- Η εφαρμογή προγραμμάτων γενετικής βελτίωσης στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών φαίνεται να έχει μεγάλες προοπτικές με παρατηρούμενο γενετικό κέρδος 4-5 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο των χερσαίων αγροτικών ειδών για το ρυθμό αύξησης (Gjedrem & Baranski 2009).
- Η δυνατότητα εφαρμογής DNA δεικτών για την ταυτοποίηση συγγενικών σχέσεων μεταξύ γονέων και απογόνων έχει καταστήσει δυνατή την εφαρμογή προγραμμάτων γενετικής επιλογής βάσει οικογένειας στις υδατοκαλλιέργειες, που φαίνεται να είναι η πιο πρόσφορη στρατηγική (Gjedrem & Baranski 2009).
- Οι μικροδορυφορικοί δείκτες αποτελούν τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους DNA δείκτες για την ταυτοποίηση συγγενικών σχέσεων ή ανάλυση πατρότητας, λόγω της συνεπικρατούς κληρονομικότητάς του, της αφθονίας τους στο γονιδίωμα και του υψηλού πολυμορφισμού που συνήθως εμφανίζουν (Liu & Cordes 2004).
- Η ποσοτική γενετική παρέχει τη δυνατότητα συνδυασμού γενεαλογικών σχέσεων με φαινοτυπικά δεδομένα για την εκτίμηση γενετικών παραμέτρων όπως ο συντελεστής κληρονομησιμότητας, οι γενετικές και οι φαινοτυπικές συσχετίσεις μεταξύ οικονομικά σημαντικών χαρακτήρων, που συνήθως πραγματοποιούνται με τη μέθοδο Περιορισμένης Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Restricted Maximum Likelihood, REML). Έπειτα, είναι δυνατή η πρόβλεψη των κληροδοτικών τιμών, συνήθως με τη χρήση του ατομικού ζωικού προτύπου (*animal model*) και τη μέθοδο της Βέλτιστης Γραμμικής Αμερόληπτης Πρόβλεψης (Best Linear Unbiased Prediction, BLUP) προκειμένου να πραγματοποιείται με ακριβέστερο τρόπο η επιλογή των γονέων που θα διαμορφώσουν την επόμενη γενιά (Wilson et al 2010).
- Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνηθούν οι συγγενικές σχέσεις μεταξύ γονέων και απογόνων στον κρانيό με τη χρήση ενός multiplex 12 μικροδορυφορικών δεικτών και να μελετηθούν γενετικές παράμετροι για το βάρος και το μήκος σε διαφορετικές ηλικίες.



Εικόνα 1. Το είδος *Argyrosomus regius*

Υλικά και Μέθοδοι

- ✓ Επαγωγή αναπαραγωγής 13 γεννητόρων (♂6 και ♀7) που συνυπήρχαν σε δεξαμενή με χορήγηση GnRHa σε όλους τους θηλυκούς και 5/6 αρσενικούς.
- ✓ Εκτροφή λαρβών σε κυκλικό κλωβό, διαλογή κατά βάρος στις ~297 DPH (*Days Post Hatching*) και μεταφορά των μεγαλύτερων στον κλωβό 1 και των μικρότερων στον κλωβό 2. Μετέπειτα επιλογή και μεταφορά 600 μεγάλων και 600 μικρών σε έναν τετράγωνο κλωβό (394 DPH).
- ✓ Δείγμα DNA από τμήμα περυγίου 1200 απογόνων και 13 γεννητόρων.
- ✓ Ατομική μέτρηση βάρους απογόνων στις 394, 770 και 978 DPH (BW1, BW2, BW3) και μήκους στις 770 και 978 DPH (Len2, Len3).
- ✓ Εξαγωγή DNA γεννητόρων και απογόνων με τη μέθοδο αλάτων (Miller et al. 1988).
- ✓ Multiplex PCR με τη χρήση 12 μικροδορυφορικών τόπων (Nousias et al. 2020, 2021).
- ✓ Ηλεκτροφόρηση σε αυτόματο αλληλουχητή ABI 3730 Capillary Analyzer (Applied Biosystems).
- ✓ Γονοτύπηση με το λογισμικό STRand v. 2.4.110 (<https://vgl.ucdavis.edu/STRand>).
- ✓ Ανάλυση πατρότητας με τη μέθοδο του αποκλεισμού στο πρόγραμμα Vitassign (Vandeputte et al. 2006), επιτρέποντας 2 αναντιστοιχίες.
- ✓ Εκτίμηση συντελεστή κληρονομησιμότητας (h^2), γενετικών (r_G) και φαινοτυπικών (r_P) συσχετίσεων μεταξύ φαινοτύπων με τη μέθοδο REML στο σύστημα λογισμικού AIREMLF90 (Misztal et al. 2018), με τη χρήση ατομικού ζωικού μοντέλου πολλαπλών ιδιοτήτων (*multi-trait animal model*, Wilson et al 2010), με τον κλωβό ως σταθερό παράγοντα:

$$Y = Xb + Zu + e$$

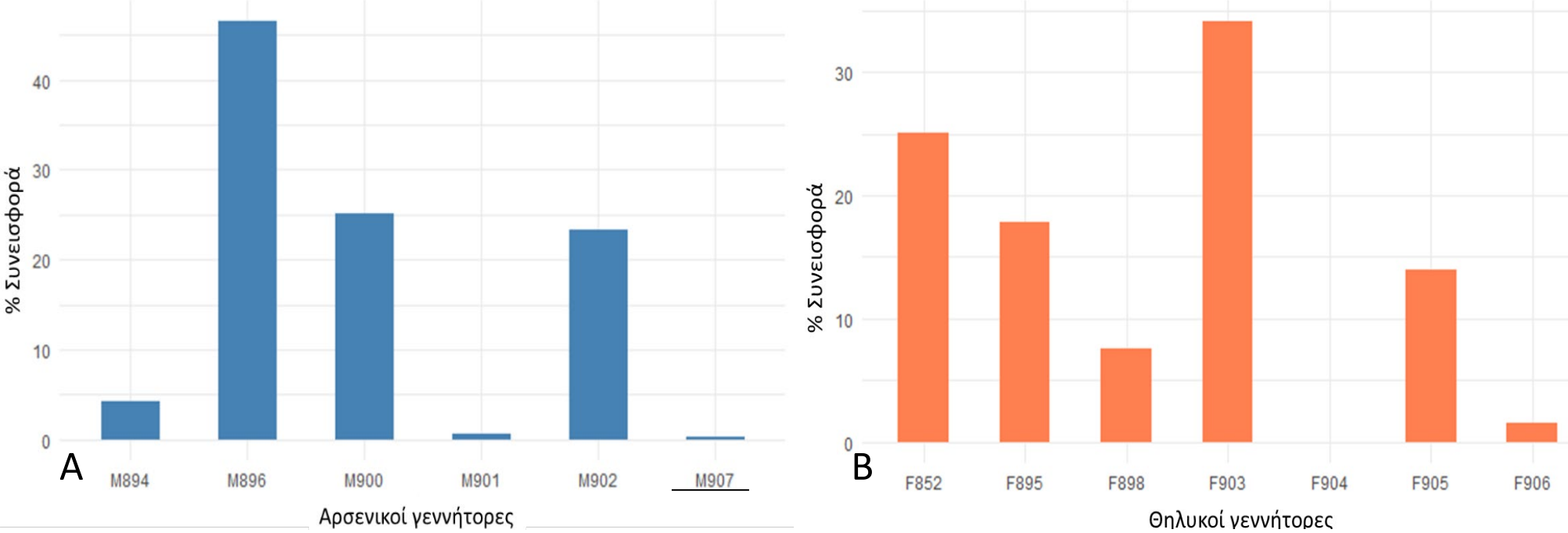
Αποτελέσματα

- Ποσοστό ανάθεσης **71,8%** (847/1179)
- Κατανομή απογόνων σε **24/42** αναμενόμενες οικογένειες

Πίνακας 1. Ποσοστιαία κατανομή 24 οικογενειών που διαμορφώθηκαν από τη διασταύρωση 13 γεννητόρων του είδους *A. regius*. Με σκούρο χρώμα επισημαίνονται οι 3 μεγαλύτερες οικογένειες που διαμορφώθηκαν και με ανοιχτό χρώμα οι 3 μικρότερες οικογένειες. Υπογραμμίζεται ο αρσενικός γεννήτορας στον οποίο δε χορηγήθηκε GnRHa.

	Αρσενικά						
Θηλυκά	M894	M896	M900	M901	M902	M907	Άθροισμα
F852	0.24	0.35	24.32	0.00	0.12	0.00	25.03
F895	1.30	1.89	0.00	0.00	14.64	0.00	17.83
F898	0.59	4.96	0.00	0.12	1.77	0.12	7.56
F903	1.18	30.22	0.47	0.24	1.89	0.12	34.12
F904	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
F905	0.94	9.09	0.00	0.00	3.90	0.00	13.93
F906	0.00	0.00	0.35	0.24	0.94	0.00	1.53
Άθροισμα	4.25	46.52	25.15	0.59	23.26	0.24	100

- Ανισότιμη γονική συνεισφορά



Εικόνα 1. Ποσοστιαία συνεισφορά Α) αρσενικών και Β) θηλυκών γεννητόρων. Υπογραμμίζεται ο γεννήτορας στον οποίο δε χορηγήθηκε GnRHa.

- Υψηλές τιμές συντελεστών κληρονομησιμότητας για τους υπό μελέτη φαινοτύπους.
- Αύξηση εκτιμώμενων τιμών κληρονομησιμότητας με την αύξηση της ηλικίας.
- Υψηλή γενετική συσχέτιση βάρους μεταξύ 770 και 978 DPH.
- Υψηλές γενετικές συσχετίσεις μεταξύ βάρους και μήκους σε ηλικίες 770 και 978 DPH.

Πίνακας 2. Συντελεστής κληρονομησιμότητας (διαγώνια με έντονη γραφή), γενετική συσχέτιση (πάνω από τη διαγώνιο) και φαινοτυπική συσχέτιση (κάτω από τη διαγώνιο) μεταξύ βάρους σε διαφορετικές ηλικίες (Α, Β, Γ) και μεταξύ βάρους και μήκους (Δ, Ε). Στις παρενθέσεις παρουσιάζεται το τυπικό σφάλμα. *Στατιστικά σημαντικές εκτιμήσεις

A		BW1	BW2	B		BW2	BW3
	BW1	0,32 (0,18)	0,56 (1,05)		BW2	0.68 (0,28)*	0,99 (0,37)*
	BW2	0,63 (0,07)*	0,68 (0,27)*		BW3	0,92 (0,019)*	0,77 (0,31)*
			BW1	BW3			
		BW1	0,32 (0,18)	0,46 (1,01)			
Γ		BW3	0,52 (0,09)*	0,80 (0,33)*			
Δ		BW2	Len2	E		BW3	Len3
	BW2	0,69 (0,28)*	0,91 (0,54)*		BW3	0,80 (0,35)*	0,94 (0,52)
	Len2	0,88 (0,028)*	0,58 (0,25)*		Len3	0,90 (0,03)*	0,72 (0,32)*

Συζήτηση

- Μέτριο ποσοστό ανάθεσης, λόγω **συγγένειας μεταξύ γεννητόρων** και χαμηλής γενετικής ποικιλότητας (<6 αλληλόμορφα/τόπο).
- **Ανισότιμη γονική συνεισφορά** έχει παρατηρηθεί γενικότερα στον κρانيό (Nousias et al. 2020) και ενδεχομένως να οφείλεται σε **ανταγωνισμό** κατά την αναπαραγωγή (Gasparini et al. 2010), **μη συγχρονισμένη ωοτοκία** και **ποιοτικά χαρακτηριστικά των γαμετών** (Bobe & Labbé 2010).
- Οι h^2 για το βάρος και το μήκος εκτιμώνται σε παρόμοιο εύρος με αυτό στην εργασία των Nousias et al. 2020, ενώ είναι υψηλότερες από άλλες εργασίες στον κρانيό (Soula 2012; Vallecillos et al. 2021) αλλά και σε άλλα είδη της οικογένειας *Sciaenidae* (Yu et al. 2020).
- Η αύξηση h^2 με την αύξηση της ηλικίας έχει παρατηρηθεί και σε άλλα είδη εκτός από τον κρانيό (García-Celdrán et al. 2015).
- Η υψηλή r_G και r_P μεταξύ βάρους και μήκους είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται και σε άλλα είδη (Chatziplis et al. 2007; García-Celdrán et al. 2015).
- Έχουν παρατηρηθεί υψηλότερες γενετικές συσχετίσεις στον βάρους σε διαφορετικές ηλικίες στον κρانيό (Soula 2012).
- Το υψηλό τυπικό σφάλμα ενδεχομένως να οφείλεται στο υπό μελέτη δείγμα, την περιορισμένη διαθεσιμότητα δεδομένων στις τελευταίες μετρήσεις λόγω **υψηλής θνησιμότητας** των ψαριών, αλλά και στην ανισότιμη κατανομή τους σε οικογένειες.

Συμπεράσματα

- ❖ **Ανάγκη καλύτερης διαχείρισης γεννητόρων** για: α) διατήρηση γενετικής ποικιλότητας και δυνατότητα απόκτησης υψηλών ποσοστών γονικής ανάθεσης με τη χρήση multiplex μικροδορυφορικών τόπων και β) εξασφάλιση πιο ισότιμης γονικής συνεισφοράς γεννητόρων.
- ❖ Οι εκτιμώμενες τιμές κληρονομησιμότητας (>0,2) για το βάρος και το μήκος υποδεικνύουν τη **δυνατότητα εφαρμογής γενετικής βελτίωσης** για τους φαινοτύπους αυτούς στον κρانيό με **ενδεχόμενο υψηλό γενετικό κέρδος**.
- ❖ Η υψηλή γενετική συσχέτιση μεταξύ βάρους και μήκους ($r_G \sim 1$) υποδεικνύει τη **δυνατότητα επιλογής βάσει ενός από τους δύο φαινοτύπους**.
- ❖ Ανάγκη μελέτης ενός **μεγαλύτερου δείγματος** για ακριβέστερη εκτίμηση των παραπάνω γενετικών παραμέτρων

Αναφορές

1. Bobe J, Labbé C (2010) Egg and sperm quality in fish. Gen Comp Endocrinol 165:535–548.
2. Chatziplis D, Batargias C, Tsigonopoulos CS, et al (2007) Mapping quantitative trait loci in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*): The BASSMAP pilot study. Aquaculture 272:172–182.
3. Duncan, N J, Estévez, A, Fernández-Palacios, H, et al (2013) Aquaculture production of meagre (*Argyrosomus regius*): Hatchery techniques, ongrowing and market. p. 519-541. In: Advances in Aquaculture Hatchery Technology. Allan, G, Burnell, G (Eds). Woodhead Publishing Limited, Cambridge, UK.
4. García-Celdrán M, Ramis G, Manchado M, et al (2015) Estimates of heritabilities and genetic correlations of growth and external skeletal deformities at different ages in a reared gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) population sourced from three broodstocks along the Spanish coasts. Aquaculture 445:33–41.
5. Gasparini C, Simmons LW, Beveridge M, Evans JP (2010) Sperm swimming velocity predicts competitive fertilization success in the green swordtail *Xiphophorus helleri*. PLoS One 5:1–5.
6. Gjedrem T, Baranski M (2009) Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction. In: Methods and Technologies in Fish Biology and Fisheries. Nielsen, J L (Eds). Springer, Anchorage, Alaska.
7. Liu ZJ, Cordes JF (2004) DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. Aquaculture 238:1–37.
8. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 16:1215.
9. Misztal I, Tsuruta S, Lourenco DAL, et al (2018) Manual for BLUPF90 family programs.
10. Nousias O, Tsakogiannis A, Duncan N, et al (2020) Parentage assignment, estimates of heritability and genetic correlation for growth-related traits in meagre *Argyrosomus regius*. Aquaculture 518:734663.
11. Soula M (2012) Estimación de parámetros genéticos en corvina, *Argyrosomus regius*, para caracteres de crecimiento, rendimiento y calidad de la carne y del pez. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
12. Wilson AJ, Reale D, Clements MN, et al (2010) An ecologist's guide to the animal model. J Anim Ecol 79:13–26.
13. Vallecillos A, María-Dolores E, Villa J, et al (2021) Phenotypic and Genetic Components for Growth, Morphology, and Flesh-Quality Traits of Meagre (*Argyrosomus regius*) Reared in Tank and Sea Cage. Animals 11:3285.
14. Vandeputte M, Mauder S, Dupont-Nivet M (2006) An evaluation of allowing for mismatches as a way to manage genotyping errors in parentage assignment by exclusion. Mol Ecol Notes 6:265–267.
15. Yu X, Adeniyi T, Lv Z, et al (2020) Phenotypic and Genetic Parameter Estimation for Growth Traits in Juvenile Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). Fish Aquac J 10:274