



Curso Biología del Desarrollo 2022



FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR | fcien.edu.uy

Actividad Taller Día I

Biología del Desarrollo en peces anuales: características particulares

Docentes: María José Arezo¹, Nicolás Papa¹, Hellen Schlueb¹ y Joaquín Garat²

•¹ Laboratorio de Biología Molecular de Organismos Acuáticos Sección Biología Celular FCien – UdelaR

•² Departamento de Genómica. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable - MEC

Ambientes y colecta



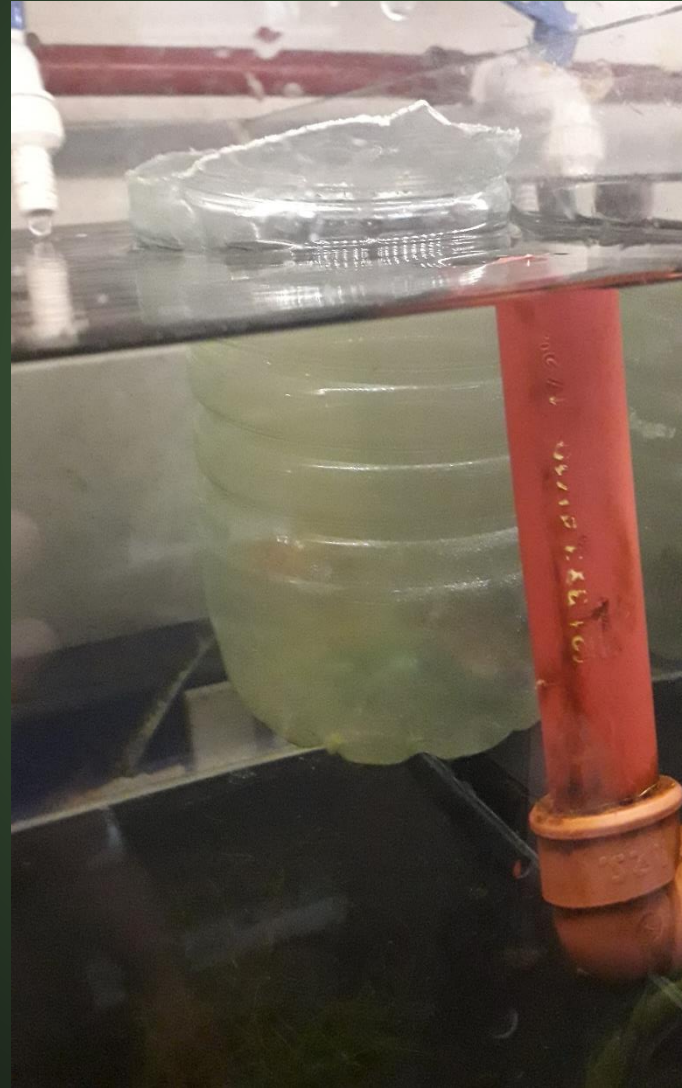
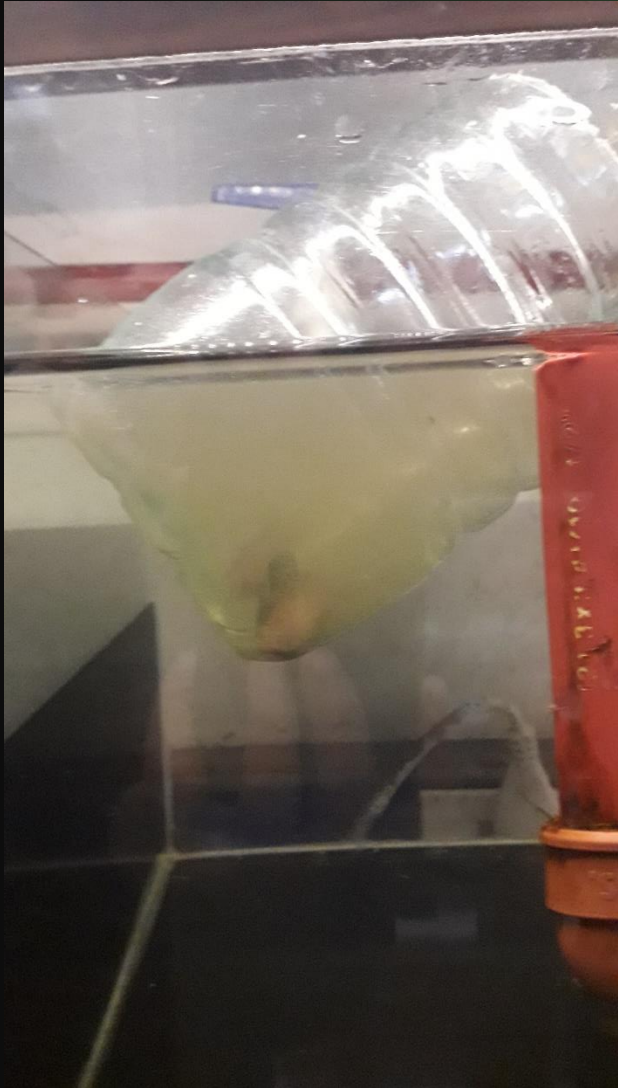
Ambientes y colecta





Austrolebias charrua macho

Llegada al laboratorio de experimentación animal y adaptación



Laboratorio de experimentación animal 2004



Ciclo en cautiverio

Se completa el ciclo vital en cautiverio: 6 meses

Crecimiento y maduración sexual
2 meses mínimo



**Sistema de mantenimiento
recirculación y filtración**

(Responsable del diseño y mantenimiento:
Mag. Nicolás Papa)

Desove
7 a 15 días



Secado
3 a 10 días



Maduración
3 meses mínimo



7 días



Eclosión
1 a 12 horas



Ejemplos de peces anuales



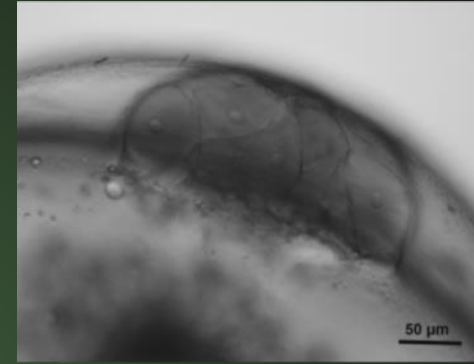
Desafío

Objetivo General

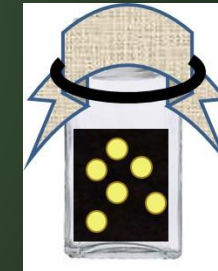
Contribuir a la caracterización de la diapausa I en *Austrolebias charrua*, organismo representativo de peces anuales, mediante aproximaciones en el laboratorio y en la naturaleza.

- Conocimientos adquiridos en *A. charrua*
- Herramientas moleculares disponibles / genoma y transcriptomas
- Diapausa I en fase D/R exclusiva de peces anuales
- Relevancia ecológica DI: sustrato hipóxico severo (expresión de genes supervivencia estrés ambiental)

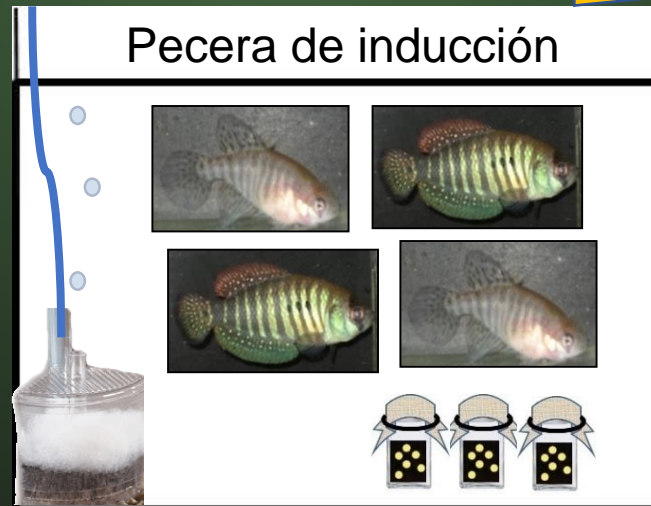
Sistema de inducción de Diapausa I



1 a 16 células





Pecera de inducción



Arezo y col. 2017

Annual Killifish Adaptations to Ephemeral Environments: Diapause I in Two *Austrolebias* Species

María José Arezo ^{1*}, Nicolás G. Papa,¹ Nibia Berois ¹, Graciela Clivio,¹ Jimena Montagne,¹ and Soledad De la Piedra²

¹Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay. Depto. de Biología Celular y Molecular

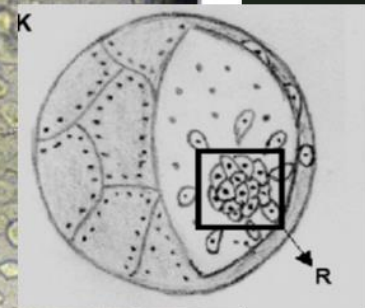
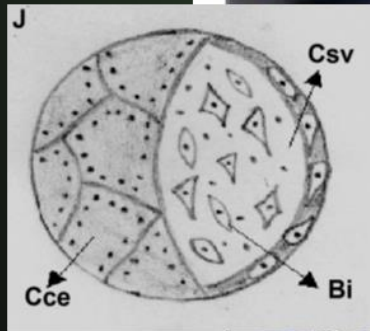
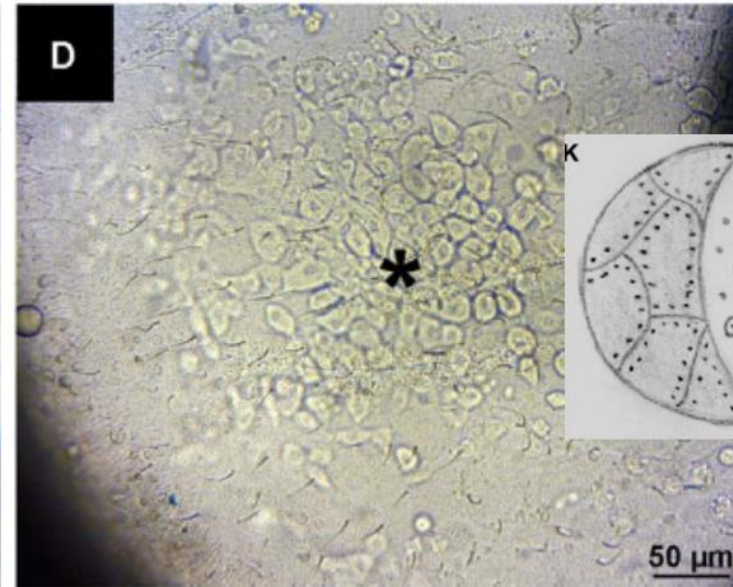
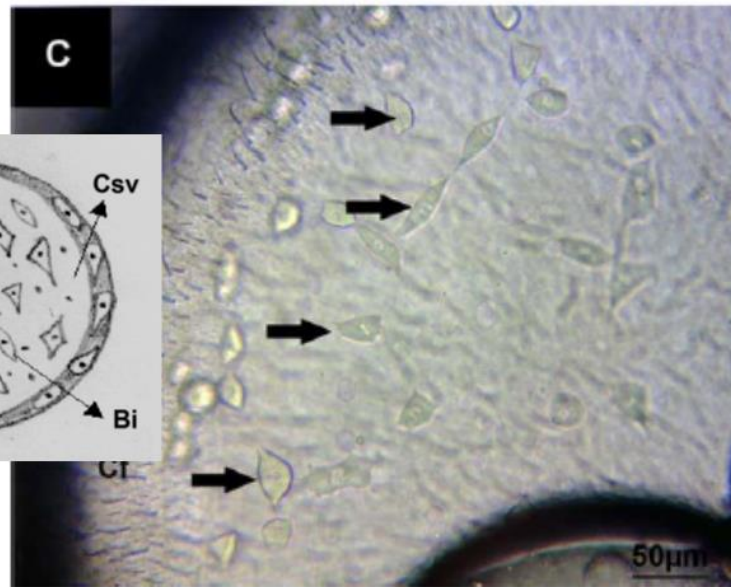
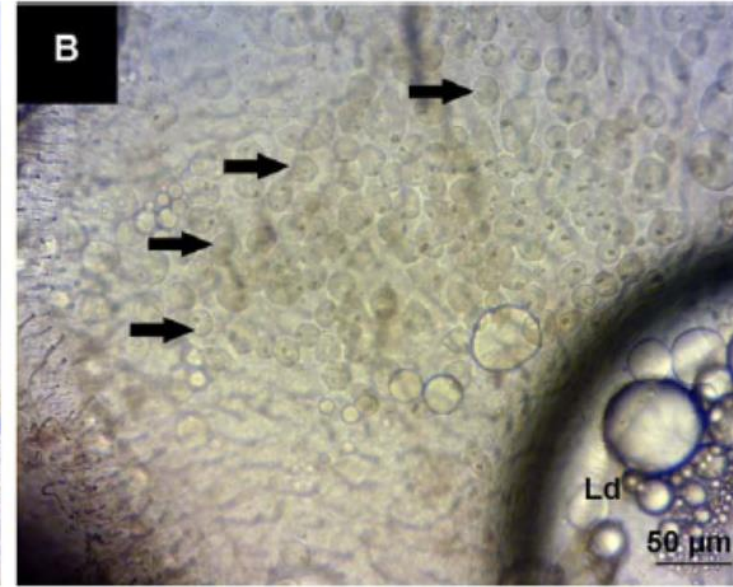
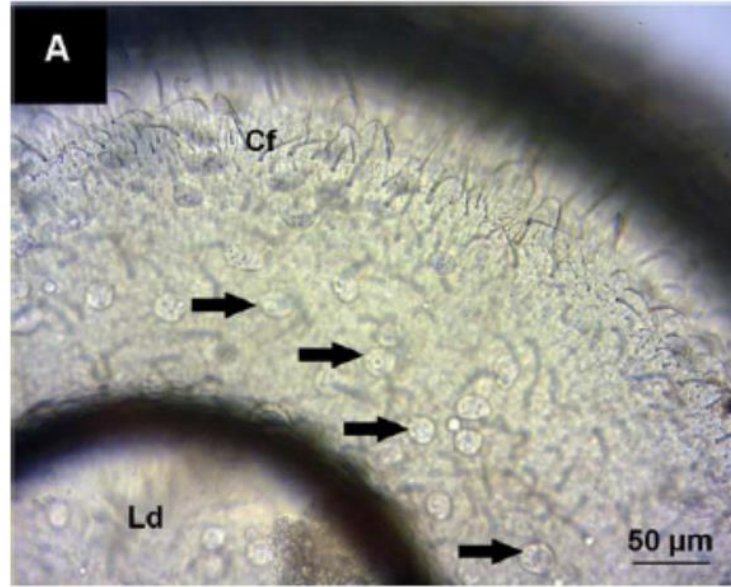
²Independent researcher, Viña del Mar, Chile

- Estandarizar un protocolo de inducción de diapausa I:
Señales: temperatura, hipoxia, presencia de adultos
- Caracterización morfológica de la diapausa I

Diapausa I

fenotipo A

fenotipo B



Exploring the molecular basis of diapause I induction in the annual killifish *Austrolebias charrua*: a transcriptomic approach

Papa, N.¹, Sotelo-Silveira, J.^{1,5} Valdivieso, C.², Pereiro, L.², Gajardo F.², Di Genova, A.^{2,6}, Chalar, C.⁴, Berois, N.¹, Allende, M.^{2*}, Arezo, M. J.^{1*}

1 Laboratorio de Biología Molecular de Organismos Acuáticos. Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

2 Center for Genome Regulation, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

3 Departamento de Genómica. Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable. Montevideo, Uruguay

4 Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

5 Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

6 Centro de Modelamiento Matemático, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Universidad de Chile.

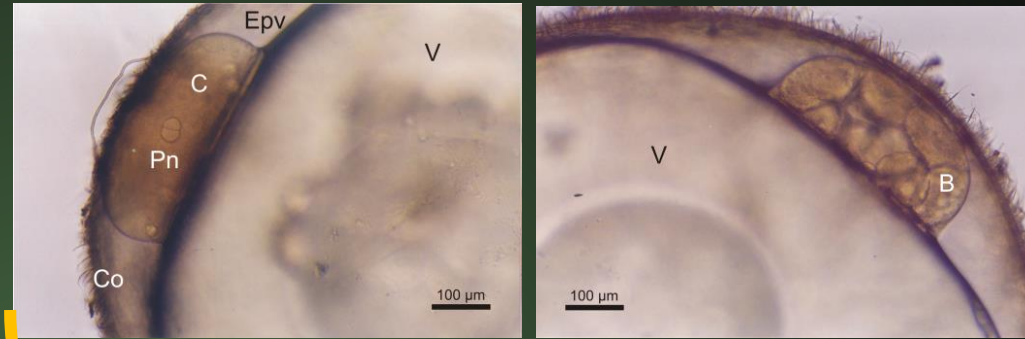
En preparación...

Diseño de obtención de muestras

Desove todos los días



Diagnóstico



Materno



72 hs

Sin Inducción



Post Inducción



3 hs Activación

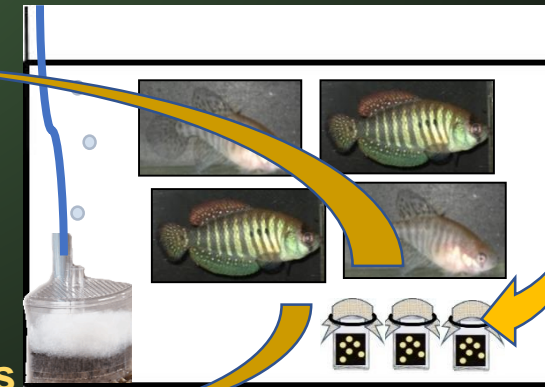


Inducción DI



30 días

Pecera de Inducción



72 hs

Desarrollo embrionario en peces anuales



Mag. Soledad de la Piedra



Lab de Ontogenia Experimental
PI: Dr. Miguel Concha

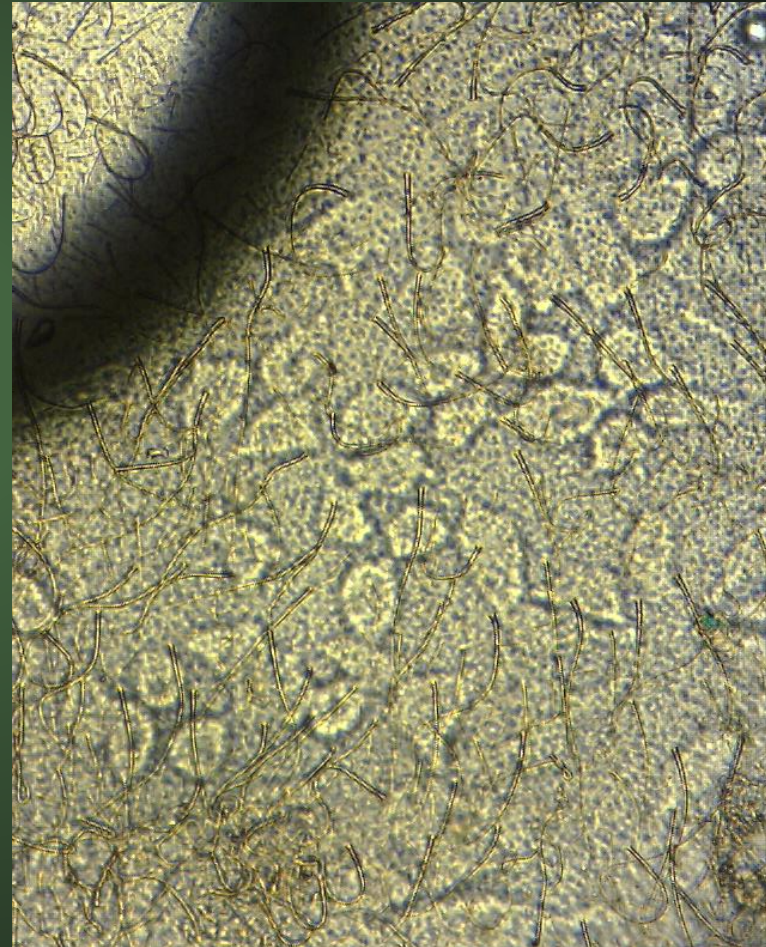
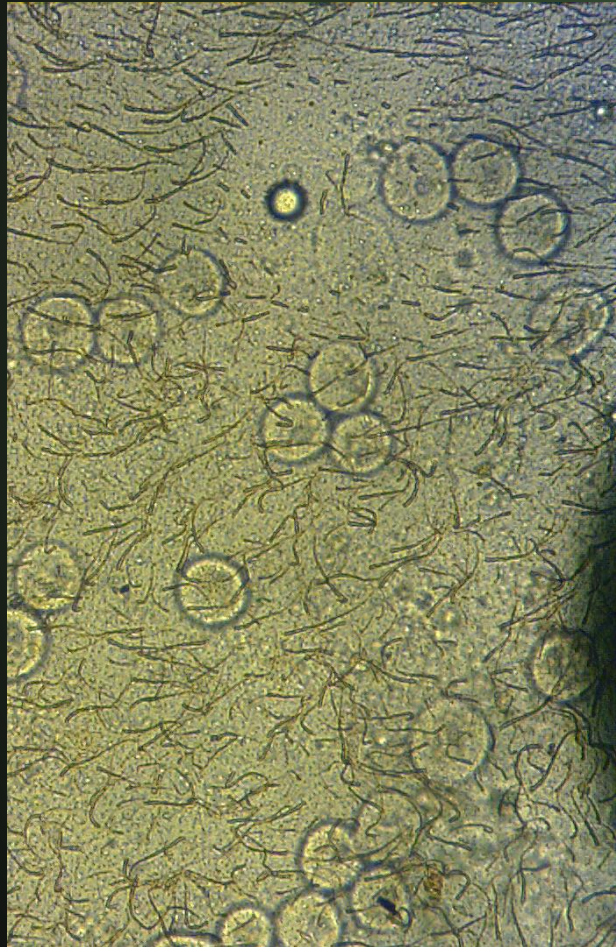


FACULTAD DE
MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CHILE

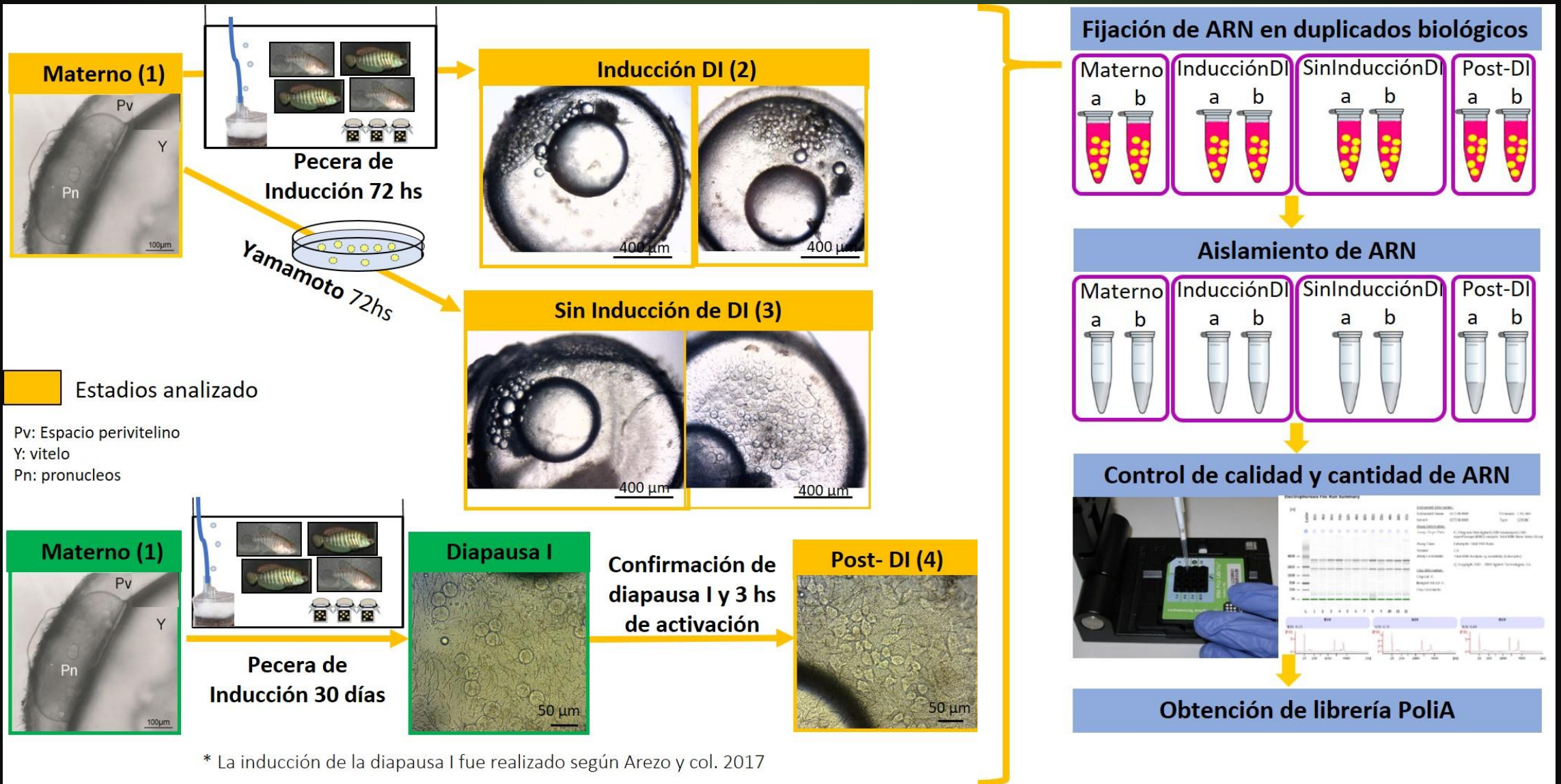


Austrolebias charrua

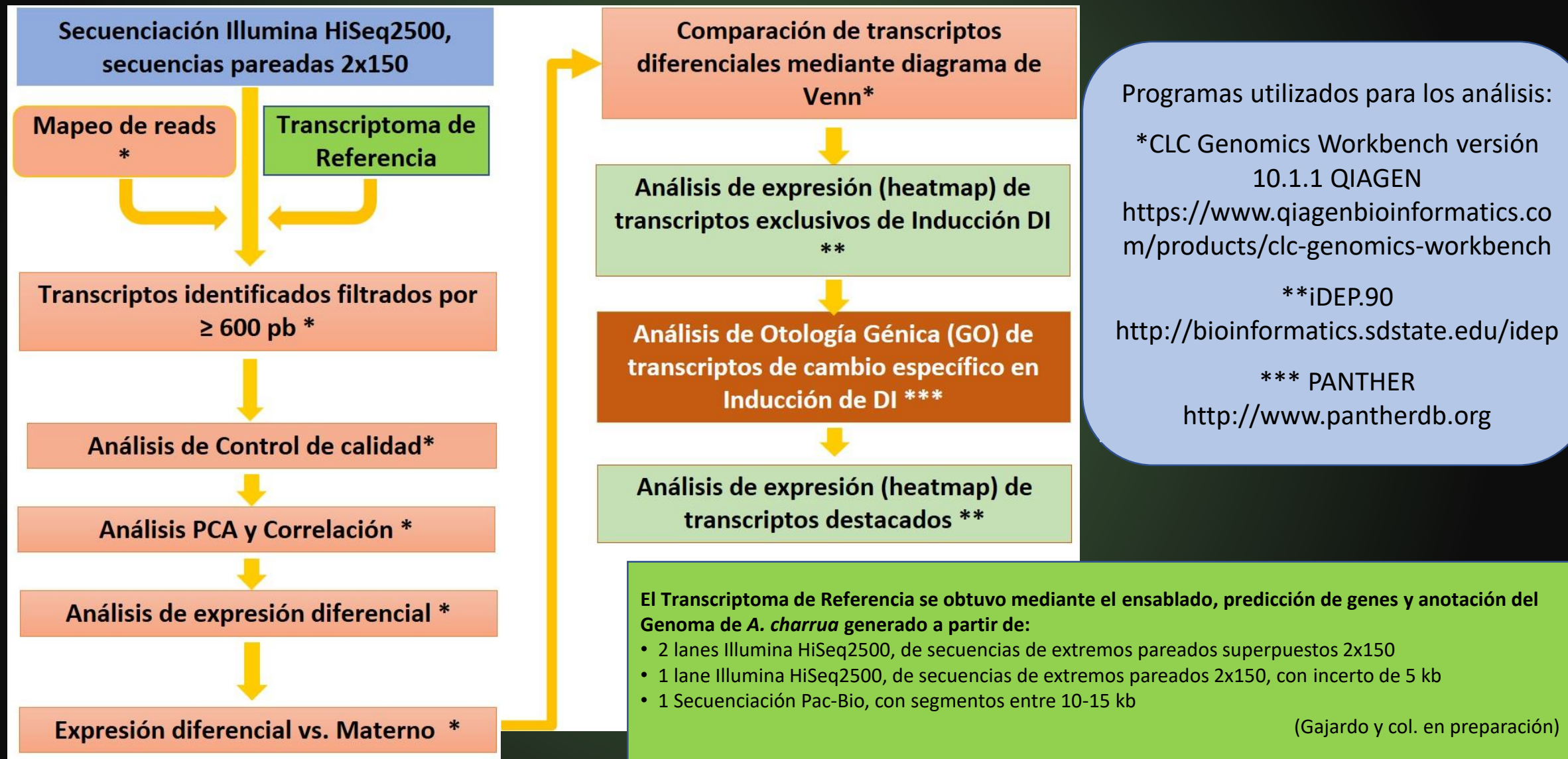
Salida de diapausa I



Diseño experimental



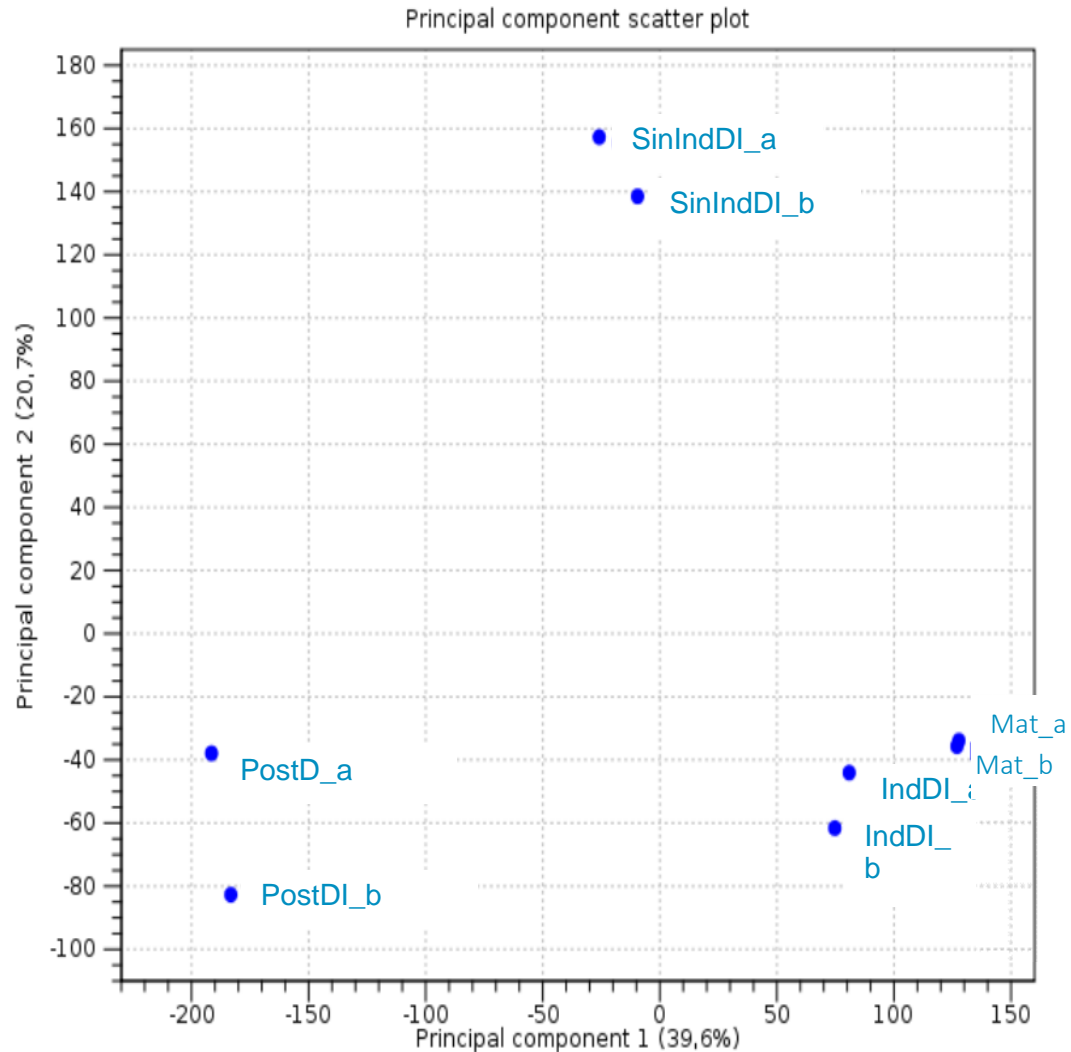
Diseño experimental



Muestras

Nombre de la muestra	Estadio embrionario	Abreviación de replica biológica	Embriones por replica	Reads por muestra(millones de reads)	Porcentajes mapeados en referencia		
					Reads mapeados en pares	Reads mapeados en pares rotos	Reads no mapeados
Materno	1 a 16 células	Mat_a	36	33,6	49,12	4,7	46,18
		Mat_b	38	31,5	45,23	4,31	50,46
Inducción DI	72hs inducción de diapausa I	IndDI_a	43	31	42,62	4,24	53,14
		IndDI_b	43	30,9	41,91	4,34	53,75
Sin Inducción DI	72hs sin inducción de diapausa I	SinIndDI_a	27	30,5	29,13	3,44	67,42
		SinIndDI_b	29	42	28,62	3,51	67,87
Post-Diapausa I	Post-diapausa I	Post-DI_a	35	34,1	51,09	5,76	43,15
		Post-DI_b	35	29,8	42,45	4,8	52,75

Control de calidad de las muestras



	Mat_a	Mat_b	SinIndDI_a	SinIndDI_b	IndDI_a	IndDI_b	PosDI_a	PosDI_b
Mat_a	1.0000	0.9952	0.6697	0.4865	0.8153	0.7605	0.2054	0.2583
Mat_b	0.9952	1.0000	0.6626	0.4869	0.8092	0.7591	0.1989	0.2510
SinIndDI_a	0.6697	0.6626	1.0000	0.8681	0.6964	0.6174	0.5483	0.6638
SinIndDI_b	0.4865	0.4869	0.8681	1.0000	0.5412	0.5046	0.3311	0.4983
IndDI_a	0.8153	0.8092	0.6964	0.5412	1.0000	0.9686	0.2600	0.3528
IndDI_b	0.7605	0.7591	0.6174	0.5046	0.9686	1.0000	0.2115	0.3034
PosDI_a	0.2054	0.1989	0.5483	0.3311	0.2600	0.2115	1.0000	0.9074
PosDI_b	0.2583	0.2510	0.6638	0.4983	0.3528	0.3034	0.9074	1.0000

Análisis de Componentes Principales (PCA) y tabla de correlación de Pearson de las muestras analizadas.

Análisis de Expresión Diferencial con Materno como control

Comparación muestras	Grupos	Transcriptos diferenciales entre muestras			
		FDR $\leq 0,05$		FDR $\leq 0,01$	
		Fold change abs ≥ 4	Fold change abs ≥ 16	Fold change abs ≥ 4	Fold change abs ≥ 16
InDI vs. Mat	2 vs.1	2211	481	1761	293
NoIndDI vs. Mat	3 vs.1	4279	1474	3458	1032
PDI vs. Mat	4 vs.1	8024	3498	6942	2897

Comparación entre las muestras

