



## CERTIFICACIÓN APROBATORIA DE TESIS DOCTORAL

### Comité de Bioética y Bioseguridad

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

*Valparaíso, 15 de noviembre de 2022*

En mi condición de Presidente del Comité de Bioética y Bioseguridad de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, declaro que se ha realizado la evaluación ético científica de la propuesta de tesis doctoral, denominada **“Predicción de la maduración temprana en machos de la cepa Lochy de salmón del Atlántico (Salmo Salar) mediante patrones de metilación del ADN”**, realizada por la alumna tesista **Jaqueline Flores Salinas** y dirigido por el profesor **José Andrés Gallardo Matus**. Los antecedentes han sido presentados ante el Comité de Bioética y Bioseguridad que represento, y en base al formulario de postulación y protocolos, se ha considerado que la experimentación se realizará de acuerdo a las especificaciones contenidas en el “Manual de Normas de Bioseguridad y Riesgos Asociados”, FONDECYT - CONICYT/ANID (2018).

En pleno acuerdo a los protocolos de estudio, metodologías y normas vigentes, se distinguen en la presente investigación los aspectos siguientes:

#### OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

Identificar patrones de metilación del ADN que permitan predecir la maduración temprana en machos de la cepa Lochy de Salmo salar y evitar sus efectos perjudiciales en salmonicultura.

#### IDONEIDAD DEL EQUIPO

La alumna tesista es Jaqueline Flores Salinas estudiante del Doctorado en Biotecnología. El profesor guía es José Andrés Gallardo Matus, de la Escuela de Ciencias del Mar (PUCV). Otros participantes del equipo son Dra. María Angélica Rueda Calderón, Postdoc en el Laboratorio experta en modelos estadísticos y matemáticos tipo Machine Learning y Bioq. Nicol Delgado, técnico en el laboratorio como apoyo para análisis bioinformáticos.

#### METODOLOGÍA DE TRABAJO Y MUESTRA A ESTUDIAR

Se visitará una empresa productora de salmón al sur de Chile de dónde se obtendrán muestras de gónada, hígado y cerebro de 120 salmones, entre los que irán algunos maduros y otros inmaduros, de diferentes edades. Dichas muestras se emplearán para realizar extracciones de ADN y ARN. Las muestras de ADN se emplearán para dos propósitos: 1. realizar un genotipado mediante un chip de polimorfismos asociados a maduración, y 2. para realizar un análisis de patrones de metilación del ADN asociados a maduración temprana. El ARN se empleará para realizar un análisis de expresión global de genes. Se realizará posteriormente un análisis bioinformático y estadístico de los datos obtenidos. Por último, a partir de estos datos genómicos, epigenómicos y transcriptómicos se



desarrollarán modelos estadísticos y matemáticos que permitan predecir la maduración temprana en salmón.

#### **ESPECIE USADA EN EL ESTUDIO**

*Salmo salar*.

#### **USO DE MODELO ANIMAL**

No es posible utilizar modelos alternativos ya que la maduración temprana, que es la problemática que se aborda, es propia de la especie de estudio. Tanto poblaciones silvestres como domesticadas de *Salmo salar* la presentan, pero no hay reportes de otro tipo de modelos de estudio que la presenten o en los que se pueda estudiar el mismo fenotipo.

#### **CRITERIOS DE LAS 3RS DE RUSSELL Y BURCH (1959)**

No es posible evitar el uso de animales ya que la problemática que se aborda es particular de la especie que se empleará, además de que el fenómeno de estudio (maduración temprana) es un proceso multifactorial que afecta diversos tejidos en el pez y se ve influenciado por diversos factores ambientales y genéticos. Por lo que es indispensable el uso de peces que presentan dicho fenotipo, ya que en otros no sería sencillo de reproducir. *Salmo salar* no está en peligro de extinción, ni se capturarán peces de la naturaleza, si no que una empresa donará los ejemplares de sus centros de cultivo, ya que la investigación es de su interés para mejorar rendimientos en su producción. El número de peces se ha **reducido** al mínimo posible, considerando 168 peces, de los cuales una tercera parte, debido a que presentarán el fenotipo de maduración temprana, serán sacrificados por la empresa aún si la investigación no se realizara. La empresa emplea benzocaína en concentración de 4mL por 20L de agua para la eutanasia de los peces.

#### **CONDICIONES DE MANEJO ANIMAL**

Se anexa.

#### **LUGAR DE TRABAJO**

Laboratorio de Genética y Genómica Aplicada, Escuela de Ciencias del Mar, Campus Curauma. Edificio de Escuela de Ciencias del Mar, 2do piso - Laboratorio de Biotecnología. El responsable del laboratorio es José Torres.

#### **ESPECIE O COMPUESTOS O SUSTANCIAS USADOS EN EL ESTUDIO**

Cloroformo, Trizol, Etanol, Isopropanol.

#### **CONDICIONES DE BIOSEGURIDAD**

Sin nivel de bioseguridad. Se trabajan estos químicos bajo campana de extracción de gases, con doble guante de nitrilo y gafas de seguridad. Dentro de la campana se cuenta con envases que entrega Agustín Arancibia Zúñiga como responsable de recolección de los residuos. Estos envases están debidamente etiquetados con los tipos de sólidos y líquidos que contienen, un envase contiene todos los químicos que he mencionado (Cloroformo, Trizol, Etanol, Isopropanol), así como las puntas y tubos utilizados para tomar y depositar dichos químicos. Cuando dichos envases llegan al tope marcado en el envase, se bajan al primer piso, al cuarto de muestras y residuos, donde hay



un estante amarillo en el que se colocan los envases bien sellados. Cada semana se hace la recolección de dichos residuos.

En el laboratorio se cuenta con las hojas de bioseguridad de los compuestos químicos a la mano y se encuentran los envases almacenados en un estante amarillo bien etiquetado, alejado de fuentes de calor.

Todos en el laboratorio utilizan bata en todo momento, hasta debajo de la rodilla y de mangas completas, tela gruesa. Pantalones, nunca faldas o short. Tenis cerrados. Guantes de nitrilo siempre que estamos trabajando, pero los removemos al tocar otros equipos, manijas de las puertas, etc. Nunca se sale del laboratorio con bata o guantes puestos. Todas las puertas están siempre debidamente cerradas y los equipos fuera de uso siempre desenchufados de la corriente eléctrica. En caso de emergencia todos contamos con el número de Don José Torres quien esta en el campus de 8am a 6pm. No hay personas laborando en el laboratorio sin supervisión después de ese horario. Se cuenta con regaderas para ojos y manos en caso de accidentes. Ambulancia en caso de accidentes más graves, y todo lo coordina Don José.

#### **RELEVANCIA CIENTÍFICA Y SOCIAL DE LA INVESTIGACIÓN**

La maduración temprana es una problemática persistente en poblaciones domesticadas de *Salmo salar*. Dificulta la rentabilidad de las pisciculturas, al asociarse con características productivamente indeseables como menor peso y crecimiento, baja calidad del filete. Afecta también el bienestar animal ya que los peces maduros son usualmente sacrificados. Esto obliga a las pisciculturas a implementar estrategias para el control que actualmente incluyen programas de mejora genética basados en la selección de peces con genotipos de maduración tardía, y control de factores ambientales asociados a maduración temprana, como la temperatura y el fotoperiodo. Sin embargo, estas estrategias siguen sin ser una solución definitiva, por lo que se propone la identificación de patrones de metilación del ADN asociados a la maduración temprana que puedan ser empleados como biomarcadores epigenéticos en modelos de predicción genético-estadísticos.

#### **DESTINO DE LOS DATOS AL TÉRMINO DE LA INVESTIGACIÓN**

La responsable de custodiar los datos es Jaqueline Flores Salinas y el profesor guía Dr. José Andrés Gallardo Matus. El almacenamiento de los datos será en algún repositorio de GitHub del laboratorio: <https://github.com/GenomicsLaboratory>, los datos no serán resguardados con clave, aunque posiblemente se mantendrán privados hasta su publicación en artículos donde el repositorio de github ya será público, por el tema de la investigación reproducible.



PONTIFICIA  
UNIVERSIDAD  
CATÓLICA DE  
VALPARAÍSO

Los documentos presentados por la tesista, ya analizados por el **Comité de Bioética y Bioseguridad**, para la elaboración de la presente certificación son los siguientes:

1. Propuesta de Tesis.
2. Ficha de antecedentes de bioseguridad PUCV.
3. Protocolo de Bioseguridad del laboratorio.
4. Protocolo de supervisión y manejo animal.
5. Currículum del (de la) Investigador(a) Responsable.

En base a lo anteriormente expuesto, el **Comité de Bioética y Bioseguridad** de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso ha concluido el presente proceso de certificación, aprobando la evaluación Bioética y de Bioseguridad solicitada por la alumna tesista doctoral Jaqueline Flores Salinas. Por último, la tesista se compromete a entregar toda la información de esta investigación que sea requerida por este Comité.

Cordialmente,

A handwritten signature in blue ink, which appears to read "Juan Carlos Gentina". The signature is stylized and enclosed within a large, loopy circular flourish.

---

**JUAN CARLOS GENTINA**

Presidente Comité de Bioética y Bioseguridad  
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso