



IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO MOLECULAR EN EL CULTIVO DE LA TILAPIA NILOTICA

Rossanna del Pilar Rodríguez Canul, Juan Pablo Ek Huchím. Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular. CINVESTAV IPN Unidad Mérida. Carr. Ant. Progreso km. 6. CP 97310 Mérida, Yucatán.
rossana@mda.cinvestav.mx.

Palabras clave: ecoparásitos, diagnóstico, Tilapia, PCR.

El cultivo de la tilapia *Oreochromis niloticus* es una actividad productiva muy rentable en el mundo debido a que esta especie es de fácil manejo, de rápido crecimiento, con una buena conversión alimenticia así como una buena aceptación en el mercado (1). En organismos de agua dulce, esta especie es la segunda de mayor importancia acuacultural después de la carpa (2). Durante su cultivo se ha visto afectada por la transmisión de parásitos ocasionado epidemias que se traducen en grandes pérdidas económicas (3). Entre estas se describen las ocasionadas por ectoparásitos monogéneos; *Cichlidogyrus* spp., que producen cichlidogiriasis y *Gyrodactylus* spp., que producen girodactilosis, así como los ocasionados por los protozoarios *Trichodina* spp., que causan tricodiniasis e *Ichthyophthirius multifiliis* que causan ich, punto blanco o ichthyophthiriasis (1). Estos organismos, habitan en la piel, aletas y/o branquias de peces, causando lesiones debido a sus órganos de fijación y tipo de alimentación a base de moco, epitelio y en ocasiones sangre. Las lesiones dan lugar a erosiones de la piel, exponiendo la dermis a infecciones secundarias. El impacto de la infección está asociado a la patogenicidad y virulencia de los ectoparásitos, a los daños mecánicos producidos en los tejidos de alojamiento, así como a las condiciones de susceptibilidad, resistencia y/o tolerancia del hospedero (4). Durante el inicio de las infecciones, estas pasan desapercibidas y solo son detectables cuando ya se observa efecto irreversible y/o mortalidad en los hospederos. En este aspecto, es necesario tener métodos de diagnóstico sensibles y específicos para la detección temprana de los patógenos, particularmente cuando los síntomas no son evidentes. Actualmente, el diagnóstico de ectoparásitos se basa en la identificación microscópica del agente causal, así como su cuantificación e incidencia. Este procedimiento diagnóstico es la prueba de oro, aunque es de carácter destructivo puesto que está basada en el sacrificio del pez. El diagnóstico de enfermedades a través de la detección de DNA genómico ha trascendido en diferentes áreas de la clínica veterinaria. Sin embargo, su aplicación en el diagnóstico de ectoparásitos en peces, es muy preliminar (5). En este trabajo se desarrollaron pruebas de detección molecular a partir del DNA genómico de los monogéneos *Cichlidogyrus* spp. y *Gyrodactylus* spp., así como de los protozoarios *I. multifiliis* y *Trichodina* spp. Para el proceso de estandarización de la prueba, se colectaron los patógenos de manera individual en viales con alcohol al 96%, así como moco externo de tilapias infectadas y tilapias libres de infección (control negativo), que se colectaron con hisopos y se guardaron a -80 °C para corroborar su eficiencia como técnica de diagnóstico no invasiva. Durante la estandarización, se realizaron extracciones de DNA con técnicas convencionales. Para el diseño de los cebadores se realizaron búsquedas de secuencias correspondientes a cada ectoparásito en el Banco Genómico: para *Gyrodactylus* spp., se diseñaron cebadores a partir de un fragmento del gen 18S, ITS1, gen 5.8S, ITS2 y gen 28S de *Gyrodactylus cichlidarum*. Para *I. multifiliis* se diseñaron a partir de una región del gen 28S. Para *Trichodina* spp., se diseñaron a partir de una región SSU del gen 18S de *Trichodina heterodontata*. Todos los cebadores se probaron con DNA genómico de cada ectoparásito y los productos de PCR se secuenciaron para comparar con secuencias homologas del Banco genómico (BLAST) para escoger un par para cada parásito con mayor homología y sensibilidad analítica. Así mismo, se estandarizó un PCR dúplex, PCR triplex y PCR multiplex con límites de detección de 31.25x10⁻³ ng/. No se observaron reacciones cruzadas, ni falsos positivos y/o falsos negativos. Su aplicación durante la detección de patógenos desde la eclosión de huevos de tilapia, hasta alevines y reversión sexual así como su aplicación como monitoreo sustentable en agua y sedimentos está siendo evaluada en el CINVESTAV IPN Unidad Mérida. En conclusión, la prueba de PCR tanto en formato simple como multiplex, ha probado ser eficiente como diagnóstico no destructivo a nivel experimental. Su homología con distintas especies del mismo género, abre la posibilidad de utilizarlo en estudios epidemiológicos, monitoreo en la cinética de infecciones, discriminación de organismos infectados y no infectados en distintas regiones del mundo en donde se lleva a cabo el cultivo de tilapia.

1. Abdel-Hafez G, Lahnsteiner F, Mansour N. (2014). Possibilities to control *Ichthyophthirius multifiliis* infestation with medicated feed in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and chub (*Leuciscus cephalus*). Parasitol. Res. 113(3): 1119-1126.
2. FAO, The State of World Fisheries and Aquaculture 2014, 310 pp.
3. Welker T.L, Lim C, Yildirim-Aksoy M, Klesius P.H. (2007). Growth, immune function, and disease and stress resistance of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed graded levels of bovine lactoferrin. Aquac. 262: 156-162.
4. Mazé-Guillermo E., Loot G. (2014). Heritable variation in host tolerance and resistance inferred from a wild host-parasite system. Proc. R. Soc. B. 281: 201-325.
5. Ek-Huchim JP, Jiménez-García I, Pérez-Vega JA, Rodríguez-Canul, R. (2012). Non-lethal detection of DNA from *Cichlidogyrus* spp. (Monogenea, Ancyrocephalinae) in gill mucus of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Dis. Aquatic. Org. 98:155-162.