



ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA DE DOS SUBUNIDADES DEL COMPLEJO ATP-SINTASA EN EL CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) EN CONDICIONES HIPÓXICAS

Martínez-Cruz, O., Muhlia-Almazán, A., Yepiz-Plascencia, G., García-Carreño, F., Córdova-Murrieta, J.
Km 0.6 Carretera a la Victoria CP 83000. Hermosillo, Sonora. México.
Fax 01 (662) 2 80 04 21. amuhlia@cascabel.ciad.mx.

Palabras clave: camarón, ATP-sintasa, ARNm.

Introducción. El complejo ATP-sintasa mitocondrial participa en la fosforilación oxidativa utilizando la energía del gradiente electroquímico para la síntesis de ATP a partir de ADP + Pi. Hasta el momento los estudios sobre la ATP-sintasa se han realizado principalmente a nivel de proteína y existe muy poca información sobre esta enzima a nivel genético, aunado a esto, en crustáceos la información es igual de escasa, incluso a nivel proteína. Así el objetivo del trabajo es evaluar cambios en la expresión de los genes que codifican a las subunidades ATP6 mitocondrial y ATPc nuclear, de la enzima ATP-sintasa de camarón blanco en condiciones hipóxicas.

Metodología. Se realizó un bioensayo con camarones sometidos a concentraciones decrecientes de oxígeno disuelto en agua, muestreándose en 6, 4, 2, 1.5 y 7 mg/L. Las concentraciones de amonio en agua se cuantificaron con la metodología propuesta por Horn (1). A su vez, se cuantificó el lactato y la glucosa en el plasma de cada organismo, y se calculó la tasa respiratoria en cada muestreo. De los organismos de cada tratamiento se disectó el hepatopáncreas, del cual se extrajo el ARN total, se evaluó su integridad (2) y se sintetizó el ADN complementario de cada muestra. Posteriormente se cuantificaron los transcritos por PCR en tiempo real, utilizando oligonucleótidos específicos para las subunidades ATP6 y ATPc de la enzima ATP-sintasa.

Resultados y discusión. Las variaciones significativas observadas tanto en la concentración de lactato y glucosa (mg/mL) en el plasma, evidenciaron el efecto de la hipoxia como se observa en el cuadro 1.

Cuadro 1. Valores de los metabolitos analizados en el plasma del camarón a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto (OD).

	6mg/L OD	4mg/L OD	2mg/L OD	1.5mg/L OD	7mg/L OD
Lactato	0.0945 ^{ad}	0.0934 ^a	0.0555 ^b	0.2636 ^c	0.1514 ^d
Glucosa	0.0888 ^a	0.1059 ^a	0.0487 ^b	0.3857 ^c	0.1258 ^{ac}
Amonio	0.3233	0.4797	0.7272	1.2926	1.3426

Diferentes literales indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las medianas de los tratamientos.

Se observó que a 1.5mg/L de OD, los valores de lactato incrementaron en un 64.1% con respecto al valor inicial, debido a la degradación de glucógeno (3, 4). Los niveles de glucosa también incrementaron un 76% con respecto

al valor inicial, sugiriendo que el camarón se está preparando para activar el metabolismo anaerobio (4). Por otro lado el nivel de amonio en agua incrementó conforme transcurrió el bioensayo, debido a que el sistema es estacionario. Además se calculó la tasa respiratoria, en donde los valores fueron disminuyendo de 0.0065 a 0.0004 mg/g*h.

Los resultados observados de la cuantificación de los transcritos por PCR en tiempo real, mostraron que los niveles de ARNm tanto para ATP6, como para ATPc tuvieron un comportamiento similar en las diferentes concentraciones de oxígeno disuelto. Así, se observó que cuando el camarón es expuesto a 1.5 mg/L de OD, la cantidad de transcritos para las dos subunidades aumenta.

Conclusiones. Al cuantificar glucosa y lactato en plasma, amonio en agua y al calcular la tasa respiratoria, se comprobó que los camarones se encontraban bajo el efecto de la hipoxia. Por otro lado, el comportamiento similar entre la cantidad de transcritos de las dos subunidades sugiere una coordinación entre dos genomas físicamente separados, el genoma nuclear y el mitocondrial. El efecto observado sobre los niveles de los transcritos por la hipoxia, sugiere una respuesta de compensación por parte del organismo en respuesta a las cantidades de oxígeno disuelto disponible en el agua, con el fin de mantener la homeostasis celular.

Agradecimiento. Al proyecto 48989 apoyado por CONACyT otorgado a AMA, al LBMOA, CIAD y al laboratorio de bioquímica enzimática en el CIBNOR.

Bibliografía.

- Horn, D. B., Squire, C. R. (1966). The estimation of ammonia using the indophenol blue reaction. *Clin. Chim. Acta.* 14(2): 185-194.
- Fourney, R., Miyakoshi, J., Day III, R. S., Paterson, M. (1988). Northern blotting: efficient RNA staining and transfer. *Focus.* 10 (1): 5-7.
- Rosas, C., Cooper, E. L., Pascual C., Brito, R., Gelabert R., Moreno, T., Miranda, G., Sánchez, A. (2004). Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). *Mar. Biol.* 145: 401-413.
- Zou, E., Du, N., Lai W. (1996). The effects of severe hypoxia on lactate and glucose concentrations in the blood of the chinese freshwater crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 114A (2): 105-109.