



INICIADORES ALTERNATIVOS PARA EL DIAGNOSTICO DEL VIRUS DEL SÍNDROME DE TAURA (TSV) EN CAMARÓN.

Martínez Vázquez Ana Verónica y Salazar Marroquín Elma Laura.

Centro de Biotecnología Genómica-IPN., Blvd. del Maestro esq. Con Elías Piña,

Col.Narciso Mendoza. Reynosa, Tam. C.P. 88710. FAX:01(899) 925 1656

E-mail: avmartinez@ipn.mx y elma_laura@yahoo.com

Palabras clave: Taura, Diagnostico, Iniciadores.

Introducción. El sector camaronicola se ha visto afectado por la aparición de varias enfermedades virales que han venido a causar grandes mortandades en cultivos, conllevando a importantes pérdidas económicas. Una de las enfermedades que ha presentado mayores riesgos en este rubro es el Síndrome de Taura (TSV), transmitiéndose de progenitores a la descendencia, a través de utensilios y otros mecanismos que pongan en contacto al patógeno con los organismos que se cultivan (1). Dado lo anterior se han establecido programas de diagnóstico para la detección oportuna del virus dentro de los cultivos acuícolas y en los límites fronterizos, evitando su introducción al territorio nacional y movilización dentro del mismo de nuevas variedades del virus. Se ha demostrado que la técnica de diagnóstico más rápida y efectiva para el TSV es la RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa y Transcriptasa Reversa). Sin embargo, para llevar a cabo este análisis a menudo se requiere de un paquete comercial que brinde los iniciadores específicos para detectar el TSV. Motivo por el cual nos dimos a la tarea de obtener iniciadores que brinden la misma efectividad de detección sin depender de estos paquetes comerciales.

Objetivo. Diseñar iniciadores y optimizar condiciones de PCR para la detección del Virus del Síndrome de Taura.

Metodología. Se llevó a cabo la búsqueda de las secuencias existentes del genoma viral del Virus del Síndrome de Taura (TSV). En la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (2) se obtuvieron varias secuencias, con las que fue posible realizar un alineamiento múltiple con Clustalw (3), que nos brindó el índice de identidad, ubicando así regiones a partir de las cuales se consiguieron iniciadores viables. Se analizaron las secuencias y se seleccionó una región conservada del genoma de TSV, en base a la cual y con ayuda del programa FastPCR(4) se llevó a cabo el diseño de 50 juegos de iniciadores. Finalmente, se llevaron a cabo pruebas teóricas para seleccionar 7 pares de iniciadores de acuerdo a sus características y probarlas en laboratorio para comprobar su efectividad en el diagnóstico de TSV. Se optimizaron las condiciones de PCR de los iniciadores diseñados, variando las concentraciones de MgCl₂, dNTPs y la temperatura de alineamiento.

Los resultados fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa.

Resultados y discusión. En base al alineamiento, se seleccionaron los iniciadores de una región altamente conservada en el fragmento que codifica a la proteína de la capsida, de alrededor de 0.5 Kb (Figura 1).



Figura 1. Alineamiento múltiple de la secuencia de nucleótidos del Virus del Síndrome de Taura mostrando los iniciadores en flecha sólida que va de 5' a 3' y línea punteada el complementario 3' a 5'.

De los 7 juegos de iniciadores escogidos para ser probados en el laboratorio, solo 2 juegos mostraron detectar de manera efectiva el Virus del Síndrome de Taura en las repetidas pruebas realizadas. El primer juego de iniciadores denominado TSV03, logró ser optimizado a una temperatura de alineamiento de 60°C, observándose un fragmento de 608pb (Figura 1). Así también, se observó un diagnóstico acertado del TSV con los iniciadores llamados TSV07, que fueron optimizados con una temperatura de alineamiento de 59°C, observándose un fragmento de 635pb, como se observa en la figura 2 a continuación.

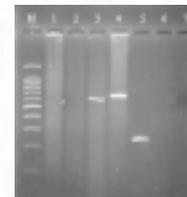


Figura 2. Carril 1 y 2 son iniciadores que no brindaron resultados, carril 3 iniciadores TSV03, carril 4 iniciadores TSV07, carril 5 iniciadores comerciales, carril 6 control negativo y carril 7 control blanco.

Conclusiones. Los resultados mostraron que con estos iniciadores diseñados se puede realizar un diagnóstico confiable del TSV, reduciendo también el costo total del análisis de diagnóstico. Con esto, es posible ofrecer una mejor opción para los productores y comercializadores de camarón, brindando un resultado rápido, veraz y a un menor costo.

Agradecimiento. Al Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento del proyecto SIP No. 20060833, de donde forma parte este trabajo.

Bibliografía.

- 1.- Norma Oficial Mexicana NOM-030-PESC-2000.
- 2.- www.ncbi.nlm.nih.gov.
- 3.- Higgins D, Thompson J, Gibson T, Thompson J.D, Higgins D.G, Gibson J. 1994. CLUSTAL W:improving the sensitivity of progressive multiple sequence weighting position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 22:4673-4680.
- 4.- Kalendar, R. 2006. www.biocenter.helsinki.fi/bi/.