



## DESPLIEGUE DIFERENCIAL DE ADNc DE TUBO DIGESTIVO DE CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) EXPUESTO A *Lactobacillus plantarum* TD23 Ó *Vibrio* V22

Maurilia Rojas Contreras, María Esther Macías Rodríguez, Roberto Carlos Vázquez Juárez, Ramón García Arce, Edgar Ibarra Núñez. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Carretera al Sur Km. 5.5 C.P.23080. La Paz, B. C. S.  
Fax: (612) 1238800, Ext.5149. mrojas@uabcs.mx.

*Palabras clave:* *Lactobacillus*, *Vibrio*, camarón.

**Introducción.** La camaronicultura en la actualidad presenta problemas por la proliferación de enfermedades principalmente virales y bacterianas. Las enfermedades de origen bacteriano son principalmente producidas por cepas del género *Vibrio*. Una alternativa para la prevención de enfermedades es el uso de probióticos. Recientemente se realizó un reto *in vivo* en el que *Lactobacillus plantarum* (TD23) presentó potencial probiótico, colonizando el tubo digestivo de camarón (*Litopenaeus vannamei*) siendo capaz de reducir el crecimiento de la cepa *Vibrio* (V22) (1).

**Objetivo.** Contribuir a la comprensión de las interacciones bacteria-hospedador analizando la expresión diferencial de genes en el tubo digestivo del camarón a través de un despliegue diferencial (DD) al suministrarles una bacteria probiótica ó una patógena.

**Metodología.** Se llevó a cabo un bioensayo con tres tratamientos (T1, T2 y T3), cada uno con 11 organismos de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). A los organismos del T1, no se le suministró ningún tipo de bacteria, el cual sirvió como control, al T2 se les suministró la bacteria probiótica *Lactobacillus plantarum* TD23 y al T3, se les suministró la bacteria patógena *Vibrio* V22. A los 3 días se realizó la extracción de los tubos digestivos para obtener el ARN total con el kit FastRNA-Green (Bio101). La síntesis de ADNc a partir de RNA, se realizó por transcripción reversa con la enzima ImProm II. Posteriormente se realizó el perfil del DD utilizando 6 oligonucleótidos aleatorios. Los productos de PCR provenientes de genes expresados diferencialmente se purificaron, reamplificaron y fueron clonados en *Escherichia coli* DH5a utilizando el vector pGEM-T easy. Se realizó la extracción de ADN plasmídico utilizando el kit Wizard plus (Promega). Los plásmidos fueron secuenciados para su posterior comparación en BLAST del NCBI.

**Resultados y discusión.** En el perfil del DD se seleccionaron 12 productos de PCR (G1C, G2A, G2F, G3H, G3J, G3K, G3L, G3M, G3N, G3P, G4A Y G6C) los cuales mostraron expresión diferencial de genes entre los 3 tratamientos. Estos resultados sugirieron que la respuesta génica del camarón es diferente cuando se expone a un probiótico ó a un patógeno. Recientemente Paholyothin y col. encontraron genes que se expresaban diferencialmente en hemocitos de *Penaeus monodon* al ser retados con *Vibrio harveyi* (2). Las secuencias analizadas, mostraron que solo tres de ellas (G2A, G3M y G4A) tenían similitud relevante con genes ya reportados (Cuadro 1). G2A y G4A observadas en T2 presentaron similitud con una marca de secuencia de expresión (EST) de una librería genómica de hepatopancreas de *Penaeus vannamei* (datos no publicados) y con una parte de un transcripto de Ciclina B del ovario de *Marsupenaeus*

*japonicus* (3) respectivamente. G3M observada en T2 y T3 presentó similitud con un EST de hemocitos de *Penaeus japonicus* en respuesta a una infección con el virus de mancha blanca WSSV (4). Estos resultados preliminares sugieren que la interacción de *L. plantarum* TD23 con el tubo digestivo del camarón podría influir el ciclo de crecimiento celular de estos organismos. Las otras secuencias pueden ser parte de genes que no se encuentran en las bases de información consultadas o pueden ser parte de regiones no codificantes, ya que se han amplificado a partir de la región poli A del ARN. Por otro lado la mayoría de los productos de ADNc obtenidos son pequeños entre 200 a 700 pares de bases (pb). Actualmente se esta siguiendo una nueva estrategia para conocer los genes completos y poder discutir mas ampliamente los resultados.

Cuadro 1. Análisis bioinformático de 3 fragmentos de genes expresados diferencialmente

Producto (pb)	Especie cercana	Identidad
G2A (743 pb)	EST de <i>Litopenaeus vannamei</i> (645 pb)	404/411 (98%) No. acceso CK590959
G4A (735 pb)	Ciclina B RNAm de <i>Marsupenaeus japonicus</i> (2452 pb)	651/733 (88%) No. acceso AY769095
G3M (139 pb)	ADNc de <i>Marsupenaeus japonicus</i> (354 pb)	107/117 (91%) No. acceso AU176202

**Conclusiones.** Los fragmentos G2A, G2F, G3H, G3N, G3P G4A y G6C, se expresaron en T2 (probiótico), pero no en T1 y T3. El fragmento G3K y G3M se expresaron en T2 y T3 con mayor intensidad que en T1 (control) y G3J y G3L se expresaron en T1 con mayor intensidad que en T2 y T3.

**Agradecimiento.** A CONACyT y al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UABCS.

### Bibliografía.

- García, R (2006). Inhibición de *Vibrio* patógeno para camarón usando *Lactobacillus*. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz Baja California Sur. Tesis de maestría.
- Paholyothin, R, Klong, L. (2005). Differentially expressed genes in hemocytes of *Vibrio harveyi* challenged shrimp *Penaeus monodon*. *J Biochem Mol Biol*. Vol 39 (1): 26-36
- Qiu, G, Yamano, K. (2005). Three forms of cyclin B transcripts in the ovary of the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*: Their molecular characterization and expression profiles during oogenesis. *Comp Biochem Mol Biol*. Vol 141 (2):186-195.
- Rojtinnakorn, J, Hirono, I, Itami, T. (2002). Gene expression in haemocytes of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* in response to infection with WSSV by EST approach. *Fish Shellfish Immunol*. Vol 13 (1): 69-83.