



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



EXPRESIÓN GENICA EN EL OSTIÓN DEL PACÍFICO *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), EXPUESTO A *Gymnodinium catenatum* PRODUCTOR DE TOXINAS PARALIZANTES (PSP).

Norma García Lagunas, Norma Y. Hernández Saavedra. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Programa de Ecología Pesquera. La Paz, Baja California Sur 23090. nhernan04@cibnor.mx.

Palabras clave: Genes, toxinas, dinoflagelados.

Introducción. En el ambiente marino, la presencia masiva de microalgas tóxicas causa grandes mortandades a través de las diferentes redes tróficas⁽¹⁾. En cultivos de ostión del Pacífico *Crassostrea gigas*, se ha observado hasta 50 % de mortalidad en juveniles recién fijados y en engorda, como consecuencia de un florecimiento algal; sin embargo, no ha sido posible establecer una relación directa causa-efecto⁽²⁾. El ostión es una especie filtroalimentadora, que puede acumular toxinas marinas durante los florecimientos algales masivos. Las toxinas paralizantes o PSP (Paralytic Shellfish Poisoning), son producidas por algunas especies de dinoflagelados, entre los que destaca *Gymnodinium catenatum*. Las toxinas PSP se denominan así por el efecto que producen en el humano al ingerir bivalvos contaminados, provocando parálisis muscular e incluso la muerte⁽³⁾. Las bases moleculares de la respuesta de *C. gigas* a la ingestión de microalgas tóxicas son hasta el momento desconocidas. El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la exposición a la microalga productora de toxina paralizante *G. catenatum* en la expresión génica en juveniles del ostión.

Metodología. Se realizaron bioensayos de exposición a *G. catenatum* (300, 3000 y 30000 cel/mL), en juveniles de *C. gigas* (3-5 mm), utilizando como control a la microalga no toxica *Isochrysis galbana*; evaluándose el efecto de la exposición aguda al tomar muestras a las cero, 3, 6, 12 y 24 horas. Se extrajo ARN total (TRIzol®, Invitrogen) y posteriormente se comprobó la ausencia de contaminación por ADN genómico (mediante PCR directo); finalmente, se sintetizó el ADNc (Cloned AMV Firts Strand cDNA Syntesis Kit®, Invitrogen). Se analizaron diferentes genes: proteínas de estrés, cadena respiratoria, regulación ácidos nucleicos, respuesta inmune, citoesqueleto, regulación proteica y 28S ribosomal, mediante PCR convencional. El análisis de los datos se realizó utilizando los programas UviDoc y Statistic 7.

Resultados. De los 25 genes analizados solo 15 presentaron amplificación. En la mayoría de los genes se observaron dos puntos críticos en el tiempo de exposición a *G. catenatum*: en la hora 3 se observó un decremento de su expresión y en la hora 12 se observó un ligero incremento en la expresión (por arriba del control) como el gen de respuesta inmune LPS y β 1-3 glucano (Fig.1), los que han sido reportados en invertebrados como respuesta general de estrés⁽⁴⁾. El comportamiento

anterior se observó en los genes de la regulación de los ácidos nucleicos (Fig. 2) donde la concentración de 3,000 cel/mL de *G. catenatum* fue la de mayor efecto. Por otro lado, los genes de la cadena respiratoria: la citocromo oxidasa y subunidad P2X4 del canal iónico, disminuyen su expresión a las 24 h de exposición, lo que pudiera estar indicando que los organismos se estresaron al final del experimento, posiblemente por la acumulación de toxina y/o estrés fisiológico. El caso contrario se observó en los genes de estrés, los que aumentaron su nivel de expresión a las 3 h; el gen con un incremento significativo en su expresión fue la glutatión S transferasa con 3000 cel/mL de *G. catenatum*.

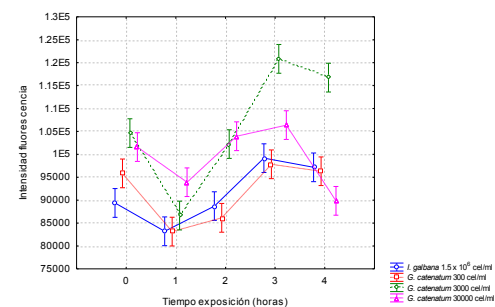


Fig. 1. Expresión génica del LPS y β 1-3 glucano en *C. gigas*, expuesto a *G. catenatum*. La expresión está dada por la intensidad fluorescente para cada tiempo de exposición

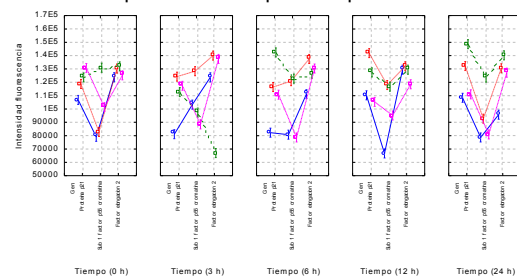


Fig. 2. Expresión de genes relacionados con la regulación de ácidos nucleicos de *C. gigas*, expuesto a *G. catenatum*. La expresión está dada por la intensidad fluorescente para cada tiempo de exposición.

Conclusiones. Los resultados preliminares muestran que una exposición aguda a *G. catenatum* es suficiente para afectar genes implicados en diferentes rutas metabólicas, activando un mecanismo de respuesta.

Agradecimientos. Al CIBNOR, proyecto EP3, y al CONACyT por la beca 239688 y el financiamiento a través del proyecto P083442.

Bibliografía.

1. Bricelj, V.M., y Shumway S.E. (1998). *Rev. Fish. Sci.* 6:315-383.
2. Huvet A., Herpin A., Degremont L., Labreuche Y., Samain J.F., Cunningham C. (2004). *Gene.* 343: 211-220.
3. FAO, (2005). FAO, Fisheries Information, Data and Statistics Unit. Rome. 5-49 pp.
4. Tanguy A., Boutet I., Moraga D. (2002). *FEBS J.* 272:390-403.