

de 18.000 genes y determinaron su función. Con este conocimiento, compararon muestras de peces que vivían en aguas limpias y peces de aguas contaminadas para estudiar la expresión de los genes identificados.

Esta información le ha servido al equipo de investigadores para desarrollar un microchip de ADN que permite evaluar la respuesta de los peces ante la contaminación del medio. La lectura del microchip muestra en rojo los genes sobre-expresados y en verde, aquellos que no se han expresado como respuesta al medio acuoso.

Según comentan los investigadores, en el caso de la anguila han contado con la colaboración del Institut de Reserca i Tecnologia Agroalimentaria de Barcelona, el cual lleva a cabo pirosecuenciaciones para la determinación de secuencias de ADN y aplicable a genomas completos. Estas investigaciones concluirán próximamente.

El uso de especies resistentes a la contaminación y el desarrollo de estos dispositivos podría contribuir a la mejora de los sistemas de cultivo y, en última instancia, a la calidad de los productos cultivados.

### **MARCADORES GENÉTICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS DE OSTRA DEL ATLÁNTICO CON RASGOS SIMILARES**

La ostra del Atlántico (*Crassostrea virginica*) es un bivalvo marino autóctono de la costa este de Norteamérica. Este bivalvo es clave en muchos ecosistemas estuarinos y suele emplearse en muchas ocasiones como especie modelo de estudios genéticos y medioambientales. Esta

especie de ostra, no obstante, se enfrenta a diferentes enfermedades que hacen disminuir su población, afectando directamente a industrias que comercializan con este bivalvo.

Estudios genéticos y genómicos están permitiendo seleccionar poblaciones con mayor resistencia a determinadas enfermedades. Entre las técnicas más utilizadas se encuentra el uso de marcadores SNPs o marcadores de polimorfismo de nucleótido simple. Los SNPs son variaciones en la cadena de ADN que afectan solamente a una base en una secuencia del genoma. Estos marcadores son muy útiles para el estudio de poblaciones ya que los SNPs se mantienen con un alto porcentaje a lo largo de diferentes generaciones. Esto permite realizar estudios comparativos entre individuos y establecer relaciones de parentesco.

En el caso de la ostra del Atlántico, en estudios llevados a cabo en 2006, se desarrollaron 32 marcadores SNPs empleando marcadores de secuencia expresada existentes en la base de datos EST. A partir de un nuevo estudio llevado a cabo en 2009 en Estados Unidos con poblaciones de diferentes zonas geográficas, se consiguieron 46 nuevos marcadores SNP a partir de la extracción de secuencias EST y por resecuenciación. Los resultados de la resecuenciación revelaron además que en la ostra del Atlántico existe un SNP por cada 20 pares de bases, lo que hace de este bivalvo, uno de los animales más polimórficos. Los resultados del estudio mostraron finalmente que 33 de 46 SNP analizados procedían de dos familias únicamente.

El conocimiento de este tipo de información genética puede ayudar

a identificar poblaciones de animales de interés comercial con mayor resistencia a enfermedades y por lo tanto, aportar una información de gran valor para la industria pesquera y acuícola.

### **MÉTODO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LARVAS DE CORVINA BASADO EN TÉCNICAS DE PCR-RFLP**

La identificación de especies en larvas de peces es una tarea muy complicada, ya que debido su tamaño microscópico, se requiere de mucha destreza y paciencia en su observación. Además, este método, es solo válido para especies que pueden ser distinguidas morfológicamente. Con los avances en biotecnología, se han desarrollado técnicas basadas en marcadores moleculares que facilitan en gran medida la identificación larvaria.

Dentro de este ámbito, recientemente un grupo de investigadores del departamento de Ecología e Hidrología de la Universidad de Murcia conjuntamente con Smithsonian Tropical Research Institute de Panamá, y el departamento de Biología Marina y Limnología de la Universidad de Panamá, han desarrollado un nuevo método para la identificación de larvas de corvina en la Bahía de Panamá. El interés de desarrollar el método en este tipo de pescado viene dado por que las corvinas son un grupo de peces constituido por 24 especies diferentes de la familia de Sciaenidae muy apreciadas en Centroamérica.

El trabajo se basó en el análisis de un fragmento del citocromo b del ADN mitocondrial mediante técnicas de



PCR-RFLP (PCR y Análisis de Polimorfismos de la Longitud de Fragmentos de Restricción). En una primera fase, se recolectaron larvas en el mar a las que se les extrajo ADN, posteriormente se amplificó el gen de interés y fue sometido a digestión con tres enzimas de restricción (Ddel, HaeIII y HinfI) capaces de reconocer regiones específicas dentro del ADN cortándolo en fragmentos propios de una especie determinada. Este procedimiento permitió discriminar entre ocho especies de corvinas en función de los patrones RFLP específicos de cada especie.

Este método, además de suponer una ventaja para la identificación de larvas, puede servir de base para futuros estudios sobre características morfológicas y ecológicas, y supone una ventaja la hora de estudiar la estacionalidad en la reproducción, la abundancia y el ingreso de nuevos individuos jóvenes a las poblaciones de estas especies de peces.

## **EFFECTO HORMONAL EN LA EXPRESIÓN DEL GEN DE LA VITELOGENINA EN LA LANGOSTA**

La langosta, *Homarus americanus*, es una de las especies de marisco más valoradas económicamente, de ahí el interés en conocer los diversos aspectos que hagan posible su cultivo acuícola.

La falta de conocimiento sobre la fisiología de reproducción impide manipular su reproducción en condiciones acuícolas.

Un grupo de investigadores de la Universidad de Toronto y de la

Universidad de Hong Kong han continuado sus investigaciones sobre la reproducción femenina de crustáceos decápodos, en concreto sobre el efecto del ácido farnesoico y la 20-hidroxicodisona en la expresión genética de la vitelogenina en la langosta.

Durante la etapa adulta de la langosta, se desarrollan los procesos de muda y de reproducción. La reproducción de la langosta se caracteriza por la maduración del ovario, con un crecimiento gradual como consecuencia de la absorción de la proteína precursora de la yema, la vitelogenina (Vg) que se transforma en vitelina. En este decápodo, la biosíntesis de la vitelogenina se lleva a cabo en el hepatopáncreas.

En estudios previos llevados a cabo por el mismo equipo de investigación, caracterizaron el gen de la vitelogenina e identificaron las hormonas influyentes en la expresión de este gen, ácido farnesoico (AF), metil farnesoato (MF) y la 20-hidroxicodisona (20E).

Con el presente estudio, pretendían determinar la concentración efectiva de estas hormonas en la regulación de la expresión genética del HaVg1, además del efecto combinado de las hormonas en el control de la vitelogénesis.

Se llevaron a cabo experiencias in vitro del efecto de las hormonas sobre muestras del hepatopáncreas de la langosta y sobre el óvulo. Se evaluó el efecto de las hormonas por separado y conjuntas, valorando su efecto sinérgico.

Las experiencias demostraron que el metil farnesoato (MF), el cual afecta

a la maduración de los ovarios en otras especies, influye muy poco o nada sobre la expresión genética del HaVg1 en la langosta. El AF (precursor del MF) desempeña un papel importante en la regulación de la reproducción de los crustáceos. La dosis efectiva de esta hormona en la langosta comprende 0.4 - 4.2  $\mu$ M.

La hormona 20E se relaciona con el proceso de muda en crustáceos y tiene también su role en la reproducción. Las experiencias llevadas a cabo demuestran que bajas concentraciones de esta hormona estimulan significativamente la expresión del HaVg1 en el heparopáncreas. El ratio de concentraciones es de 0.7-6.7  $\mu$ M. Un aumento en la dosis de 20E podría sugerir un cambio en el mecanismo celular que favorece la muda en lugar de estimular la vitelogénesis.

Se observa la máxima expresión del gen HaVg1 tras 90min de aplicación de cada una de las hormonas por separado.

Bajas dosis de mezclas de FA y 20E tienen un mayor efecto sobre la expresión de la HaVg1 que la misma dosis de las dos hormonas por separado. El efecto es sinérgico pero no aditivo. La estimulación se observó durante los 90 primeros minutos.

Las experiencias muestran que la AF funciona como la hormona juvenil en crustáceos.

Los ensayos llevados a cabo contribuyen al conocimiento del proceso reproductivo de la langosta además de contribuir a la manipulación de la reproducción de la langosta en condiciones acuícolas.