



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 μ 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 μ 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.