

XVII Congreso Nacional de **ACUICULTURA** CENTRO DE CONGRESOS "EL BATEL" | CARTAGENA



Libro de resúmenes

Del 7 al 10 de Mayo 2019

“Conocimiento e Innovación para **crecer** en azul”

* Fotografía de pintura de **Pedro Cano**

Libro de resúmenes del XVII Congreso Nacional de **ACUICULTURA**

“Conocimiento e Innovación para **crecer** en azul”

CARTAGENA

Del 7 al 10 de Mayo 2019

Editor: Francisco Javier Martínez López
Año de Publicación: 2019
ISBN: 978-84-09-11292-0

Comité científico

Coordinadores:

Esteban Abad, María Ángeles. *UMU*

Sánchez Vázquez, Francisco Javier. *UMU*

Vocales:

Aguado Giménez Felipe. *IMIDA, San Pedro del Pinatar*

Ahuir Baraja, Ana E. *L'Oceanografic, Valencia*

Albentosa Verdú, Marina. *IEO, San Pedro*

Armero Ibáñez, Eva. *UPTC*

Belmonte Ríos, Antonio. *TAXON Estudios Ambientales S.L.*

Chaves Pozo, Elena. *IEO, Mazarrón*

Cortés Melendreras, Emilio. *Acuario UMU*

Cuesta Peñafiel, Alberto. *UMU*

Cruz González, Montserrat. *U Vigo*

Delgado Saavedra, M^a Jesús. *UCM*

Estévez García, Alicia. *IRTA, San Carles de la Ràpita*

Felip Edo, Alicia. *CSIC, Torre de la Sal*

Fernández Aldana, Juan Manuel. *REMA. APROMAR*

Furones Nozal, Dolors. *IRTA, San Carles de la Ràpita*

García García, Benjamín. *IMIDA, Murcia*

Gisbert Casas, Enric. *IRTA, San Carles de la Ràpita*

Herrera Rodríguez, Marcelino. *IFAPA, Agua del Pino*

Hidalgo Puertas, Félix. [UGR](#)

Ibarz Valls, Antoni. *UB*

Jerez Herrera, Salvador. *IEO, Canarias*

Jover Cerdá, Miguel. *ETSIA, UPV*

León Bañares, Rosa María. *Uhu*

López Belga, M^a Dolores. *Culmarex S.L., Murcia*

Mañanós Sánchez, Evaristo. *IATS-CSIC, Torre de la Sal*

Márquez Llano-Ponte, Isabel. *SERIDA, Gijón*

Martínez Portela, Paulino. *USC*

Nodavirus regula la respuesta inmunitaria en la lubina a nivel proteico

Yulema Valero^{1,3}, Marta Arizcun², Jimena Cortés³, Fanny Guzmán³, Luis Mercado³, M. Ángeles Esteban¹, Elena Chaves-Pozo², Alberto Cuesta^{1*} ¹Departamento de Biología Celular, Facultad de Biología, Campus Regional de Excelencia Internacional "Campus Mare Nostrum". Universidad de Murcia. España. ²Instituto Español de Oceanografía (IEO), Puerto de Mazarrón, Murcia, España. ³Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, Instituto de Biología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Abstract

In this work we have studied, by means of polyclonal antibodies, the levels of the antimicrobial peptides, interferon gamma and perforin proteins during the larval development of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), into the gonads from adults and in response against nodavirus (NNV) infection, a lethal virus for this species. This study shows, for the first time, a protein characterization of molecules relevant for the immune system in larval stages and their modulation upon NNV infection which points to a post-transcriptional regulation.

Resumen

En este trabajo hemos estudiado mediante anticuerpos policlonales los niveles de péptidos antimicrobianos, interferón gamma y perforina en ejemplares sanos de lubina europea (*Dicentrarchus labrax*) durante el desarrollo larvario, así como en la gónada de adultos. Además, también los hemos analizado en varios tejidos de juveniles de lubina tras una infección con nodavirus (NNV), un virus letal para esta especie. Este estudio muestra por primera vez una caracterización de proteínas inmunorelevantes en estadios larvarios de la lubina y la regulación proteica del sistema inmunitario tras una infección con NNV, la cual apunta a una modulación post-traducciona del mismo.

Justificación

La lubina (*Dicentrarchus labrax*) es la especie más relevante en la producción acuícola nacional en términos de biomasa (Tm). Uno de los problemas más serios a los que se enfrenta su cultivo es su alta sensibilidad a la infección por nodavirus (NNV) que afecta principalmente a larvas y juveniles, provocando tasas de mortalidad de hasta un 100% (Costa y Thompson, 2016). Debido a que la incidencia de patologías de origen infeccioso se ha convertido en un factor determinante en el sector, se ha de poner especial atención en la caracterización de su sistema inmunitario. Con la aparición de marcadores de poblaciones específicas de células, el estudio de la inmunidad se ha centrado en la caracterización de leucocitos, su función inmunitaria y el patrón de expresión de genes relacionados con la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. En este trabajo se han producido anticuerpos policlonales para cuantificar péptidos antimicrobianos, interferón gamma y perforina, lo que nos ha permitido estudiar dichas proteínas en condiciones normales y frente a una infección con NNV.

Material y métodos

Se tomaron muestras de huevos y larvas completas durante el desarrollo embrionario, así como de ovario y testículo de lubinas (*Dicentrarchus labrax*) adultas en periodo de puesta. Además, juveniles sanos de lubina se infectaron intramuscularmente con una dosis letal de nodavirus (genotipo RGNNV; 5×10^5 TCID₅₀ NNV / pez) y se tomaron muestras de músculo, cerebro, riñón cefálico y bazo tras 1 y 5 días de infección. Parte de las muestras se homogeneizaron en PBS y se obtuvo el sobrenadante tras centrifugar (10.000 g, 4°C, 10 min). Se obtuvieron anticuerpos contra NK-lisina, dicentracina, perforina e interferón gamma de lubina que, junto a un anticuerpo previamente obtenido frente a hepcidina de trucha (*Oncorhynchus mykiss*; Álvarez *et al.*, 2013), se validaron en muestras de bazo de lubina mediante *western blot* o ELISA, cuantificándose posteriormente el nivel de proteínas en todas las muestras obtenidas mediante ELISA (Santana *et al.*, 2013).

Resultados y discusión

Nuestros resultados han demostrado que los anticuerpos obtenidos son específicos y reconocen las proteínas de interés. En primer lugar, se observaron niveles basales de todas las proteínas estudiadas en huevos de lubina, aumentando en dos fases diferenciadas del desarrollo ontogénico, menos en el caso de la dicentracina. Por su parte la perforina mantuvo niveles constantes hasta el día 69 post-fecundación. En cuanto a la gónada de lubinas adultas, todas las proteínas analizadas mostraron niveles más altos en ovario que en testículo excepto la NK-lisina. Tras la infección de juveniles de lubina con NNV pudimos observar que el virus mayoritariamente inhibe la síntesis de las proteínas estudiadas. Estos resultados están en consonancia con estudios previos en los que se demostró que NNV inhibe la transcripción de genes relacionados con la respuesta antiviral de la lubina (Valero *et al.*, 2015a,b), pudiendo estar relacionado con la susceptibilidad de esta especie a NNV. Sin embargo, contrastan con el aumento de la función antimicrobiana en suero y la expresión de genes codificantes de péptidos antimicrobianos (Valero *et al.*, 2015c, 2016) sugiriendo una modulación post-traducciona tras la infección, como ocurre con otros virus de ARN de mamíferos (Edgil y Harris, 2006).

Bibliografía

Álvarez, C. A., P. A. Santana, F. Guzmán, S. Marshall y L. Mercado. 2013. Detection of the hepcidin prepropeptide and mature peptide in liver of rainbow trout. *Developmental Comparative Immunology*. 41: 77-81.

Costa, J. Z. y K. D. Thompson. 2016. Understanding the interaction between Betanodavirus and its host for the development of prophylactic measures for viral encephalopathy and retinopathy. *Fish & Shellfish Immunology*. 53: 35-49.

Edgil, D. y E. Harris. 2006. End-to-end communication in the modulation of translation by mammalian RNA viruses. *Virus Res* 119: 43-51.

Santana, P. A., C. A. Álvarez, F. Guzmán y L. Mercado. 2013. Development of a sandwich ELISA for quantifying hepcidin in Rainbow trout. *Fish & Shellfish Immunology*. 35: 748-755.

Valero, Y., M. Arizcun, M. Á. Esteban, A. Cuesta y E. Chaves-Pozo. 2016. Transcription of histones H1 and H2B is regulated by several immune stimuli in gilthead seabream and European sea bass. *Fish & Shellfish Immunology*. 57: 107-115.

Valero, Y., P. Morcillo, J. Meseguer, F. Buonocore, M. Á. Esteban, E. Chaves-Pozo y A. Cuesta. 2015a. Characterization of the interferon pathway in the teleost fish gonad against the vertically transmitted viral nervous necrosis virus. *Journal of General Virology*. 96: 2176-2187.

Valero, Y., M. Arizcun, M. Á. Esteban, I. Bandín, J. G. Oliveira, S. Patel, A. Cuesta y E. Chaves-Pozo. 2015b. Nodavirus colonizes and replicates in the testis of gilthead seabream and European sea bass modulating its immune and reproductive functions. *PLoS One*. 10: e0145131.

Valero, Y., A. García-Alcázar, M. Á. Esteban, A. Cuesta y E. Chaves-Pozo. 2015c. Antimicrobial response is increased in the testis of European sea bass, but not in gilthead seabream, upon nodavirus infection. *Fish & Shellfish Immunology*. 44: 203-213.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y fondos FEDER (AGL2013-43588-P y AGL2016-74866-C3-1-R), la Fundación Séneca (04538/GERM/06), el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico de Chile (FONDECYT N° 1140797) y el Instituto Español de Oceanografía (NODAMED). Y. V. agradece la financiación del programa "Becas Iberoamérica. Santander Investigación" por su beca posdoctoral.

Organizadores



Instituciones Colaboradoras



Patrocinadores



XVII Congreso Nacional de
ACUICULTURA
CENTRO DE CONGRESOS | "EL BATEL" | CARTAGENA