



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



UNIVERSIDAD DE SONORA

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS
POSGRADO EN BIOCIENCIAS

TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE DOS ESPECIES DE MICROALGAS CON UN SHARN PARA SU USO CONTRA LA REPLICACION DEL HERPESVIRUS DE OSTREIDOS 1 EN EL OSTIÓN DEL PACÍFICO, *Crassostrea gigas*

Presenta: M. Carolina Gallardo Ybarra.

Director: Dr. Enrique De la Re Vega

Co-Director: Dr. Arturo Sánchez Paz

Resumen

En el cultivo de *Crassostrea gigas*, uno de los virus más devastadores es el Herpesvirus de Ostreidos tipo 1 (OsHV-1), que causa mortalidades masivas en los ostiones. Técnicas como la interferencia del ARN (ARNi), han demostrado disminuir la replicación del OsHV-1, pero su implementación en sistemas acuícolas representa un reto. Por consiguiente, varios estudios desarrollan microalgas recombinantes con ARNs interferentes dirigidos a genes virales para el control de patógenos en cultivos acuícolas. El objetivo del proyecto es evaluar el efecto de las microalgas *Isochrysis sp.* y *Chlamydomonas reinhardtii* transformadas con un shARN dirigido al OsHV-1, suministradas en *C. gigas*. Para ello se transformarán dos especies de microalgas con dos vectores, uno que tiene insertado el shARN dirigido al Herpesvirus (pAAV-GFP) y otro contiene el gen de resistencia a paromomicina (Phyco69), la microalga se administrará a ostiones infectados y se medirá el número de copias virales a lo largo de un bioensayo de infección. En las pruebas de susceptibilidad a paromomicina, se observó que *Isochrysis sp.* presenta susceptibilidad al antibiótico a concentraciones de 400 y 500 µg/mL y *Chlamydomonas r.* a 300, 400 y 500 µg/mL. Actualmente se estandariza la transformación con el plásmido Phyco69 en las dos especies microalgas.

Abstract

In *Crassostrea gigas* culture, one of the most devastating viruses is the Ostreid Herpesvirus 1 (OsHV-1), which causes massive mortalities in oysters. Techniques such as RNA interference (RNAi) has shown to decrease OsHV-1 replication, but its implementation in aquaculture systems represents a challenge. Therefore, several studies develop recombinant microalgae with interfering RNAs directed at viral genes for the control of pathogens in aquaculture cultures. The aim of the project is to evaluate the effect of *Isochrysis sp.* and *Chlamydomonas reinhardtii* transformed with a shRNA targeting OsHV- 1 supplied in *C. gigas*. For this, the microalgae will be transformed with two vectors, one that has inserted the shRNA directed to the Herpesvirus (pAAV-GFP) and another that contains the paromomycin resistance gene (Phyco69), microalgae will be supplied to infected OsHV-1 oysters, the number of viral copies will be measured throughout an infection bioassay. In susceptibility testing to paromomycin the microalgae *Isochrysis sp.* present susceptibility to the antibiotic at a concentration of 400 and 500 µg/mL and *Chlamydomonas r.* to 300, 400 and 500 µg/mL.

Currently, the transformation technique with plasmid Phyco69 of the two species of microalgae is standardized.