

Año 13, PCTI 210-2022-06-22

Respuesta inmune en leucocitos del bazo de *Totoaba macdonaldi* por efecto del β -glucano de *Cystobasidium benthicum* (β G-Cyben)

Cristian Machuca¹, Carlos Angulo^{1*}, Yuniel Méndez-Martínez², Martha Reyes-Becerril¹, Miriam Angulo¹, Verónica Sánchez¹

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR)- Grupo de Inmunología y Vacunología. angulo@cibnor.mx

²Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ), Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológicas, Ecuador

Biotecnología y Ciencias Agropecuarias.

Abstract

The β -glucan from the yeast *Cystobasidium benthicum* (β G-Cyben) can activate the defense system and could be used to improve fish production. Therefore, the immune response generated by β G-Cyben was evaluated in spleen leukocytes from totoaba (*Totoaba macdonaldi*). At the laboratory level, *C. benthicum* strain LR192 was used to extract β G-cyben and three concentrations (50, 100 and 200 μ g/mL) were analyzed in spleen leukocytes from totoaba. The safety of the molecule and innate responses; phagocytosis, nitric oxide, respiratory burst and superoxide dismutase were evaluated. The results demonstrated that β G-cyben proved to be a safe molecule and to be a potential immunostimulant for *T. macdonaldi* because increased immune parameters, mainly depending of the concentration.

Key words: phagocytic cells, yeast, immune system.

Resumen

El β -glucano de la levadura *Cystobasidium benthicum* (β G-Cyben) puede activar el sistema de defensa y podría ser empleado en la mejora de la producción piscícola. Por ello, la respuesta inmune generada por β G-Cyben se evaluó en leucocitos de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*). A nivel laboratorio, se cultivó *C. benthicum* LR192 para extraer β G-cyben y se analizaron tres concentraciones (50, 100 y 200 μ g/mL) en leucocitos del bazo de totoaba. Se evaluó la seguridad de la molécula y las respuestas innatas; fagocitosis, óxido nítrico, explosión respiratoria y superóxido dismutasa. Los resultados demostraron que β G-cyben es una molécula segura y un potencial inmunostimulante para *T. macdonaldi* porque aumentó parámetros inmunes, principalmente dependiendo de la concentración.

Palabras clave: células fagocíticas, levadura, sistema inmune.

Problemática

Existe poca información sobre el uso de productos de levaduras y de su beneficio en la mejorara de la salud y la producción sustentable de peces, como la totoaba.

Usuarios

La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), secretarías de desarrollo estatal y municipal; productores acuícolas; y la sociedad en general.

Introducción

En los últimos años, los inmunostimulantes han ido reemplazando a los antibióticos por los impactos y problemas que generan en la producción de peces (Vásquez-Piñeros et al., 2012). Los inmunostimulantes de origen natural incrementan la resistencia a enfermedades por la activación de la primera línea de defensa (inmune innata). Como los β -glucanos obtenidos de la pared celular de levaduras presentan actividades que mejoran la salud de peces (Miest et al., 2016). Para el β -glucano de la levadura *Cystobasidium benthicum* se ha descrito su posible uso en organismos como peces (Reyes-Becerril et al., 2021) e incluso humanos

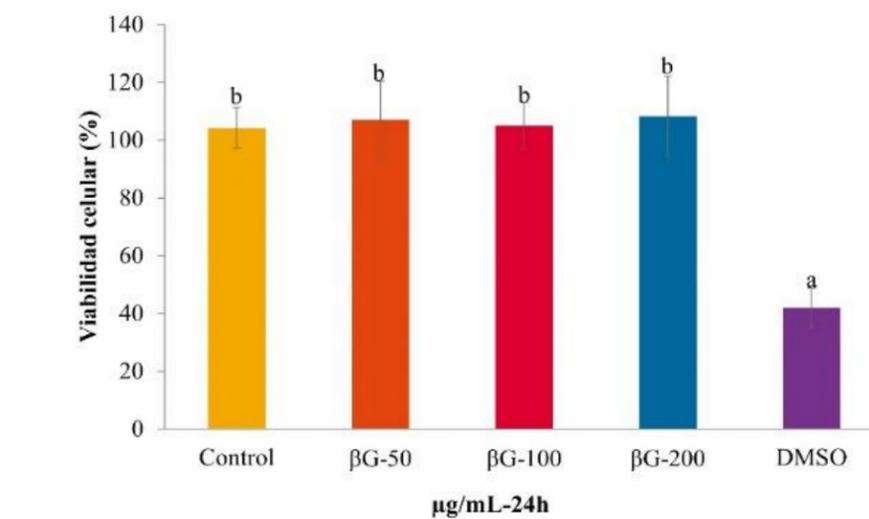


Figura 1. Viabilidad de leucocitos de bazo de *Totoaba macdonaldi* a las 24 h de estimulación con β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL). Las barras representan la media \pm desviación estándar y las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos. DMSO: Control de muerte celular (tóxico).

(Sanchez et al., 2021). Por lo tanto, este estudio evaluó la respuesta de defensas inmunes innatas generadas por el β -glucano de *C. benthicum* (β G-Cyben) en leucocitos del bazo de un pez emblemático del Golfo de California: la *Totoaba macdonaldi*.

Objetivos

Evaluar la respuesta inmune generada por β G-Cyben en leucocitos del bazo de la totoaba.

Materiales y Métodos

Obtención de β G-cyben: La levadura *Cystobasidium benthicum* LR192 se cultivó en el laboratorio para extraer el β -glucano usando: soluciones alcalinas (para separar la pared celular), soluciones ácidas (para eliminar grasas y proteínas), y etanol (para purificar el glucano), siguiendo la metodología descrita por Sánchez et al. (2021).

Aislamiento y estimulación de leucocitos: Los bazos de totoabas fueron donados por Earth Ocean Farms, La Paz, Baja California Sur, México. Los leucocitos se aislaron del bazo mediante técnicas estandarizadas (Reyes-Becerril et al., 2016); y se concentraron hasta obtener 1 millón de leucocitos por mililitro. Enseguida, se agregaron diferentes dosis de β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL de medio de cultivo celular) y se incubaron durante 24 horas a 25 °C (Machuca, 2021).

Análisis de respuestas de defensa: Primero, se analizó el número de células vivas (viabilidad) para verificar que β G-Cyben no causaba daño. Otros parámetros como la habilidad fagocítica, la actividad de explosión respiratoria, producción de óxido nítrico y la actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) fueron medidos con técnicas estándar de laboratorio descritas y citadas por Machuca, (2021).

Resultados y Discusión

El β G-Cyben tiene una proporción de 53.4 % de enlaces β -1,3–1,6-glucano y un peso molecular de

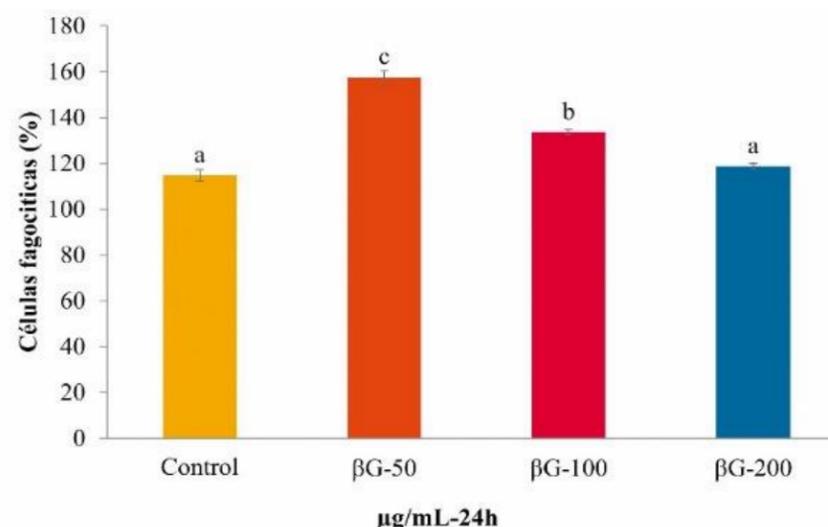


Figura 2. Células fagocíticas de bazo de *Totoaba macdonaldi* a las 24 h de estimulación con β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL). Las barras representan la media \pm desviación estándar y las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

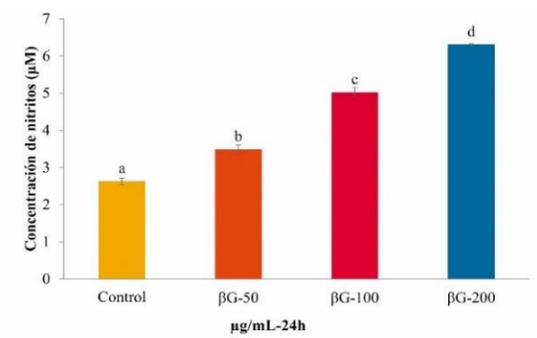


Figura 3. Producción de óxido nítrico (estimada por la concentración de nitritos) en leucocitos de bazo de *Totoaba macdonaldi* a las 24 h de estimulación con β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL). Las barras representan la media \pm desviación estándar y las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Conclusiones

El β G-cyben estimuló las actividades de defensa inmune analizadas en leucocitos, por lo que se sugiere su evaluación como inmunostimulante para el cultivo de la totoaba.

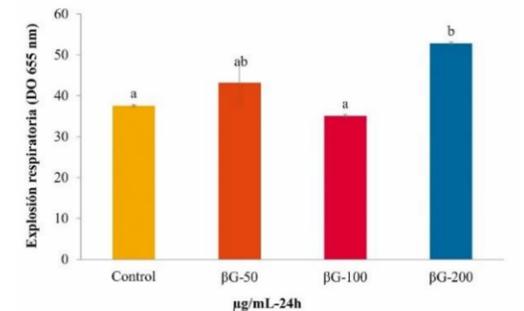


Figura 4. Actividad de explosión respiratoria en leucocitos de bazo de *Totoaba macdonaldi* a las 24 h de estimulación con β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL). Las barras representan la media \pm desviación estándar y las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

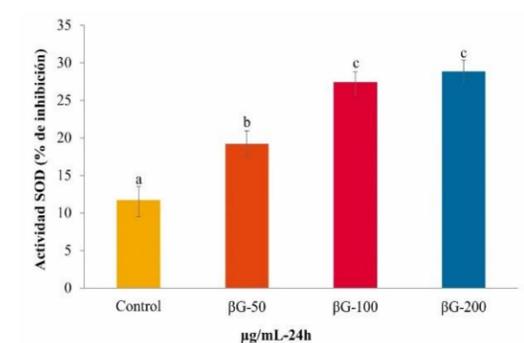


Figura 5. Actividad de superóxido dismutasa (SOD) en leucocitos de bazo de *Totoaba macdonaldi* a las 24 h de estimulación con β G-cyben (50, 100 y 200 μ g/mL). Las barras representan la media \pm desviación estándar y las letras indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos.

Impacto Socioeconómico

El objetivo de usar inmunostimulantes es mejorar la salud de los peces; y más aún si es una especie marina en peligro crítico extinción con los más altos índices de crecimiento acuícola. Además, este aporte científico contribuye con información sobre el conocimiento del sistema inmune de esta especie tan importante para los Estados que colindan con el Golfo de California, y en general, en el país.



Contacto PCTI:
hnoasco2008@hotmail.com