

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE UNA ENZIMA PROPIA DE INVERTEBRADOS "FENOLOXIDASA" EN LA HEMOLINFA DE LA LANGOSTA *Cherax quadricarinatus*

Yesenia Sánchez Salgado¹, Claudia Sierra Castillo^{1,2} Luis Fernando Cruz García²

¹Laboratorio de Biología Celular, Facultad de Ciencias Biológicas; ²Laboratorio de Bioingeniería acuícola, Centro de Investigaciones Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

yeni_diana@hotmail.com, lfcg1983@yahoo.com.mx, clasiecas33@gmail.com

INTRODUCCIÓN.

Fonseca y colaboradores (2013) citan en estudios de los últimos años la existencia de un sistema inmune en crustáceos, basado en efectos celulares y humorales que se combinan para eliminar lo extraño. El mecanismo de defensa en crustáceos incluyen las barreras físicas, representadas por un rígido exoesqueleto que constituye la primera barrera de defensa para su sobrevivencia, la coagulación de la hemolinfa, melanización, aglutinación celular, mecanismos antimicrobianos, nodulación, encapsulación y mecanismos fagocíticos. La coagulación de la hemolinfa y melanización es mediada por el sistema de la profenoloxidasa (proPO) que es directamente inducido por la presencia de sustancias extrañas, sometiendo a los organismos inmovilizando para que finalmente sean eliminados con las sustancias antimicrobianas que son liberadas por la mayoría de los diferentes hemocitos. Una vez liberado el contenido granular por degranulación la proPO es activada en fenoloxidasa (PO), enzima responsable de la melanización (pigmento pardo negro) con propiedades biológicas como la inhibición de enzimas bacterianas y fúngicas.

Debido a que es un organismo de importancia económica y las condiciones de cultivo pueden causar estrés debilitando al organismo haciéndolo susceptible a diversos microorganismos que merma su producción; es necesario estudiar cómo actúa su sistema inmune, por lo tanto se pretende evaluar la cantidad de la enzima profenoloxidasa (proPO) en los hemocitos y fenoloxidasa (PO) activa en suero de la hemolinfa de la langosta, ya que forma parte importante del mecanismo de defensa. Es importante mencionar que la proPO es una enzima propia de invertebrados que no se encuentra en los vertebrados, por lo cual es relevante estudiar su comportamiento y su papel en el sistema inmune de langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*.

OBJETIVO.

Analizar la concentración de la enzima fenoloxidasa en el suero de la hemolinfa *Cherax quadricarinatus*.

METODOLOGÍA.

Obtención de los organismos y extracción de hemolinfa



Realización de frotis



Tinción de Wright



Determinación de fenoloxidasa en suero



Determinación de fenoloxidasa en frotis



Observación



RESULTADOS.

Se determino la presencia de ocho grupos celulares en frotis de hemolinfa y método de Wright, en base a la clasificación por Cruz (2007), (Fig. 1).

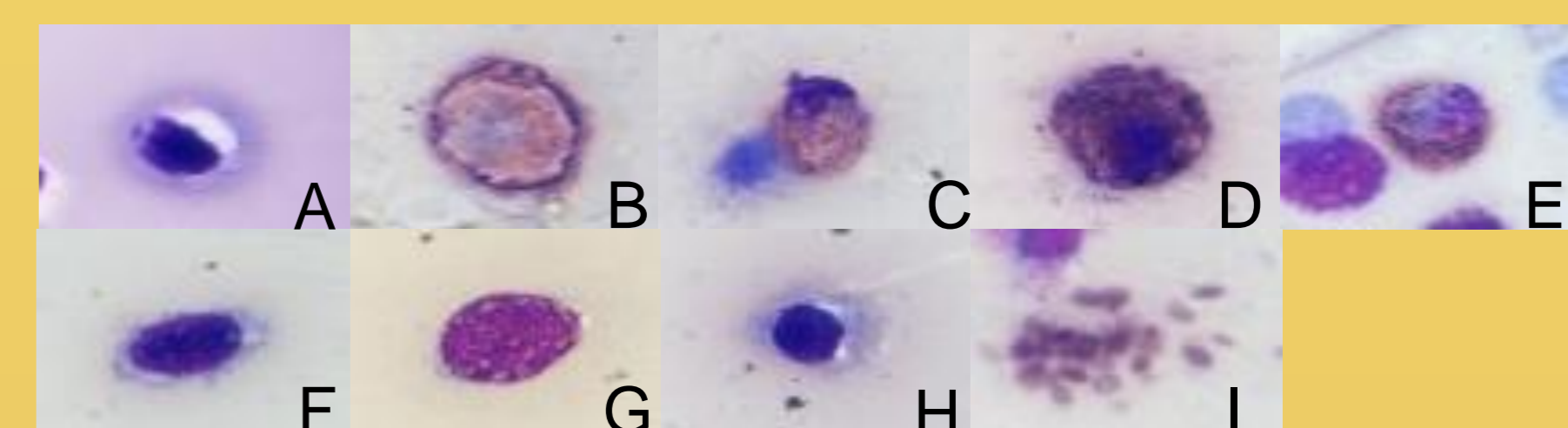
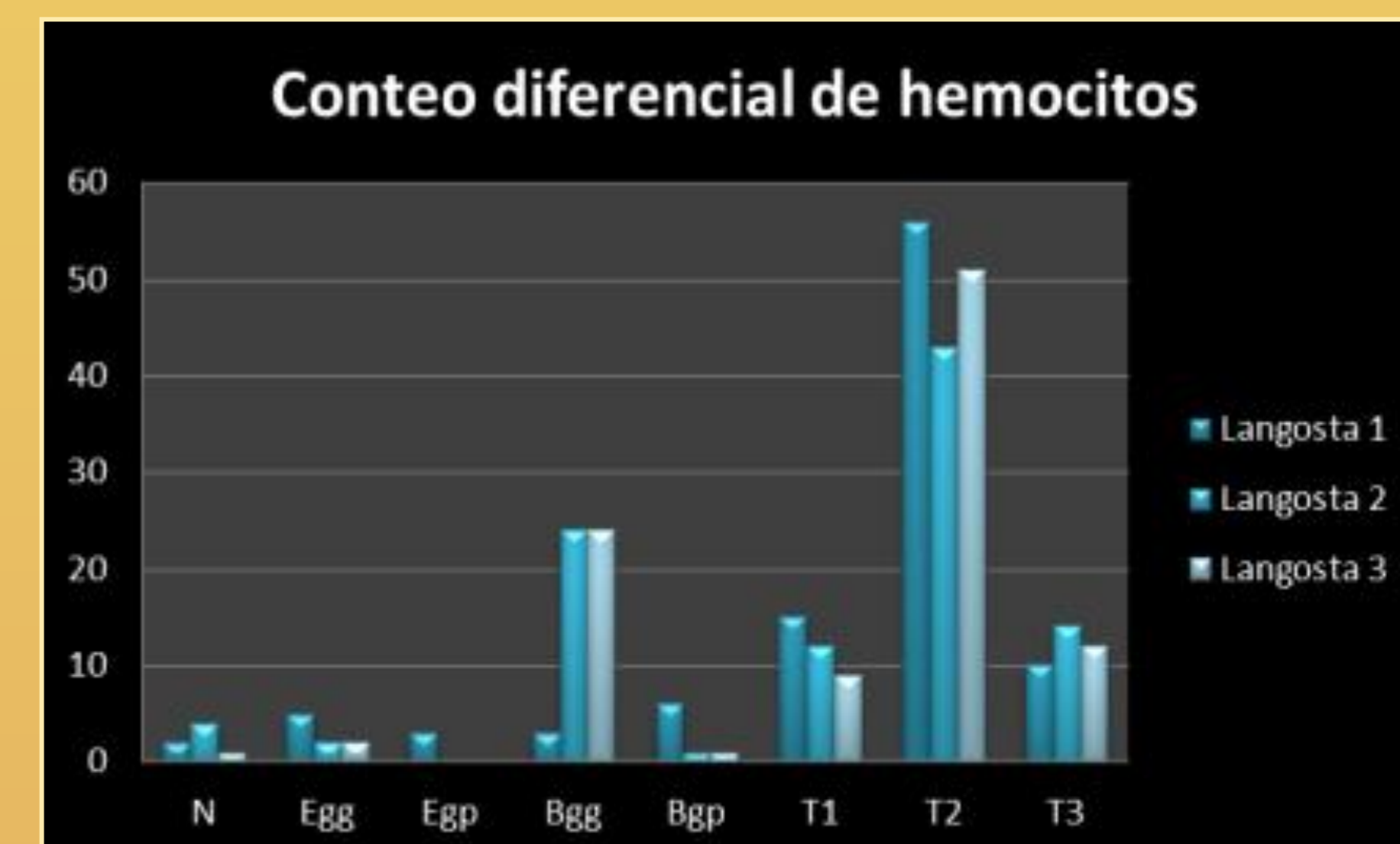


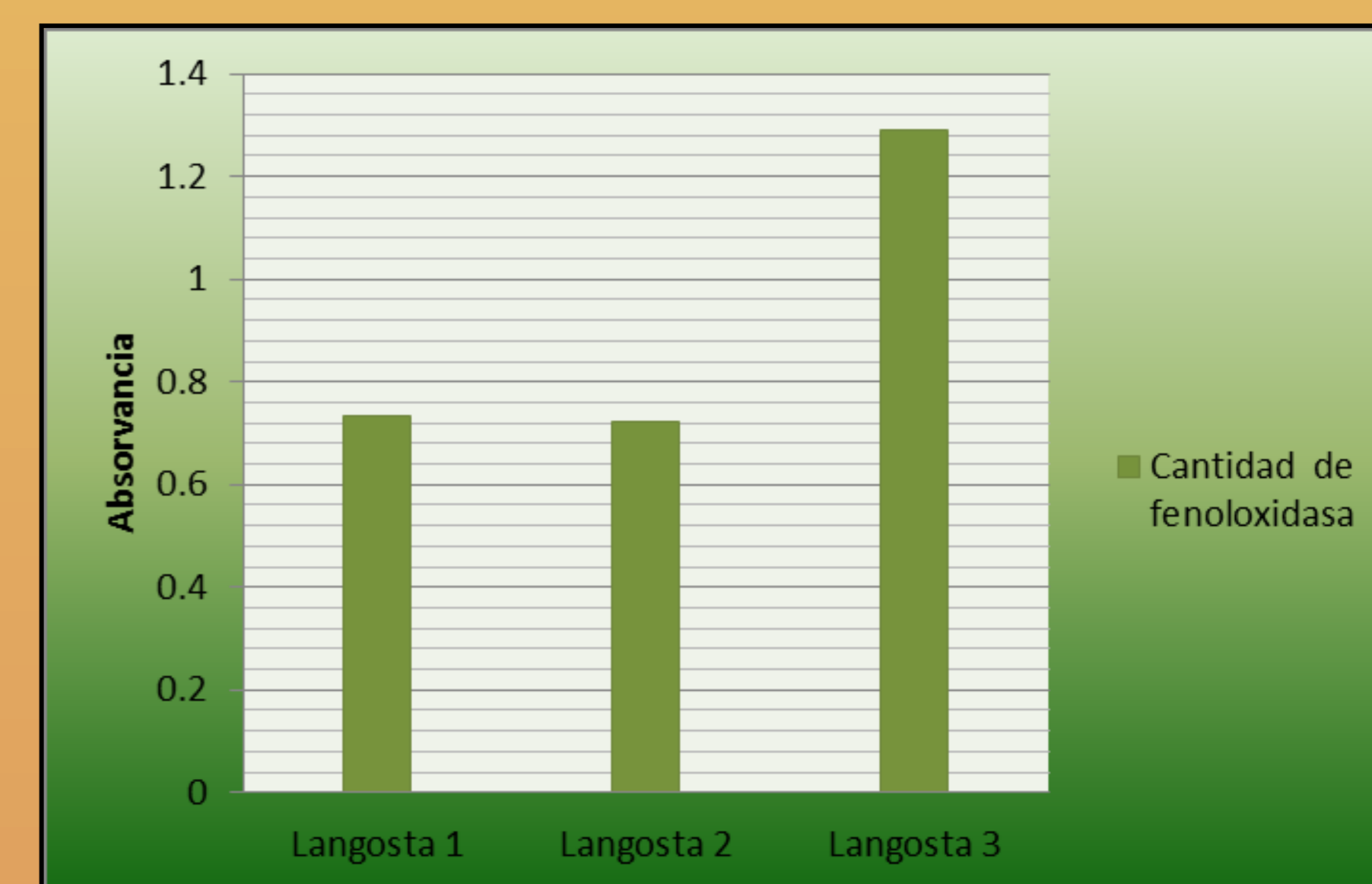
Fig. 1. Hemocitos de la langosta *Cherax quadricarinatus*: neutrocito (A), eosinocito gránulos pequeños (B), eosinocito gránulos grandes (C), basofilocito gránulos pequeños (D), basofilocito gránulos grandes (E), tipo I (F), tipo II (G), tipo III (H) y se observaron células degranulando (I).

Por otra parte, se pudo apreciar que el grupo de los granulocitos se presentan en menor porcentaje a diferencia de los agranulocitos. En la langosta 1 se observa menor porcentaje de basofilocitos en relación a la langosta 2 y 3. Se observó también que el tipo celular más abundante en las tres langostas es el nucleocito rosa.



Grafica 1. Muestra el porcentaje de cada grupo celular en las tres langostas

La langosta en la que se observo mayor cantidad de fenoloxidasa en suero fue en la langosta 3, mientras que en la langosta 1 y 2 presentan una cantidad similar.



Grafica 2. Comparación de la cantidad de fenoloxidasa en las tres langostas

La determinación de fenoloxidasa en frotis fue positiva, los tres organismos presentaron en sus diferentes tipos celulares reacción intensa, media, ligera y nula.

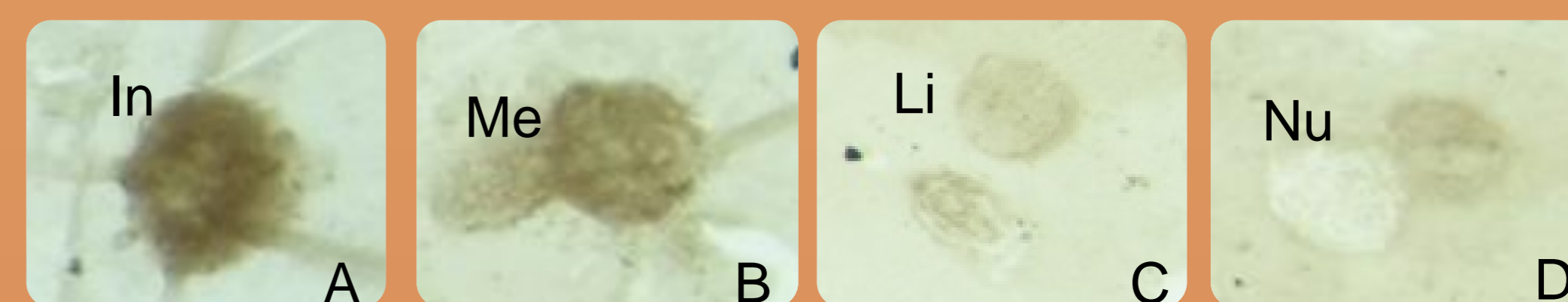


Fig. 2 hemocitos de la langosta *Cherax quadricarinatus* con reacción positiva a la fenoloxidasa reacción intensa (In), media (Me), ligera (Li) y nula (Nu).

CONCLUSIONES.

Los hemocitos de la langosta *Cherax quadricarinatus* producen la profenoloxidasa (proPO) en los gránulos de los hemocitos y esta es liberada al suero para ser activada en fenoloxidasa (PO), como parte del sistema inmune de estos crustáceos cuando éstos pueden ser atacados por patógenos, por lo que esta enzima es de vital importancia para que estos organismos sean resistentes.

LITERATURA CITADA

- Cruz G. L. F., Sierra C. C. (2007). Caracterización de los hemocitos de la langosta *Cherax quadricarinatus*. Tesis de Licenciatura.
- Cerenius, L. and K. Söderhäll. (2004). The prophenoloxidas activating system in invertebrates R. Immunological Reviews. 198:116-126.
- Fonseca E., González R. and Rico R. (2013). Sistema inmune de los camarones. Aqua tic. N. 38: 68-84
- Lanz, H., S. Hernández, E. Garrido, V. Tsutsumi and H. Arechiga. (1993a). Prophenoloxidas system activation in the Crayfish *Procambarus clarki*. Dev. Comp. Immunol. 17:399- 406.
- Vazquez, L., Sierra C., Juarez S., Agundis C., Zavala A., Zenteno E.(1998). Mecanismos de inmunidad en crustáceos. INTERCIENCIA. N.6 pp 334-346