

J. Diversificación de Especies

EFFECTO DEL ESTRÉS POR HIPOXIA EN LA RESPUESTA INMUNE INNATA DE MUCOSAS DE *CILUS GILBERTI*

Belinda Vega¹, Teresa Toro¹, Juan F. Alvarado², Claudia B. Cárcamo¹, Fanny Guzmán³, Félix Acosta⁴, Marcia Oliva⁵, Edison Serrano⁵ y Claudio A. Álvarez⁵

1 Laboratorio de Fisiología y Genética Marina (FIGEMA), Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas (CEAZA), Coquimbo, Chile. belinda.vega@ceaza.cl; claudia.carcamo@ceaza.cl

2 Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador. francisco.panameno@ues.edu.sv

3 Núcleo Biotecnología Curauma (NBC), Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile. fanny.guzman@pucv.cl

4 Grupo de Investigación en Acuicultura (GIA), Instituto Universitario Ecoaqua, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Islas Canarias, España. felix.acosta@ulpgc.es

5 Laboratorio de Cultivo de Peces, Departamento de Acuicultura, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Coquimbo, Chile. edison.serrano@ucn.cl; moliva@ucn.cl; claudio.alvarez@ucn.cl

Resumen

La corvina chilena (*Cilus gilberti*) es un esciéndido nativo de las costas de Chile y Perú, recientemente domesticado con el propósito de diversificar la acuicultura de América del Sur. Sin embargo, en las zonas destinadas a su cultivo experimentarán fluctuaciones en la concentración de oxígeno disuelto en el mar. Por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar el impacto del estrés por hipoxia en la respuesta inmunitaria innata de mucosas de *C. gilberti* frente a patógenos. Se realizó un bioensayo con juveniles de corvina (~17g). La mitad de los peces fue expuesto a un evento de hipoxia de 3 horas de duración, seguido de la inmunoestimulación con LPS de *Vibrio anguillarum* y *V. anguillarum* inactivado, administrados por baño. Después de 0, 7, 24 y 48 h de la inoculación, fueron recogidas muestras de piel, branquias e intestino anterior para el análisis por RT-qPCR de la expresión de los genes *IL-1 β* , *TNF- α* , *IL-10*, *TGF- β* e *HIF-1 α* . Los peces no estimulados expuestos a hipoxia expresaron en branquias ~2 veces más *HIF-1 α* que los mantenidos en normoxia a las 0hpi. Mientras que las respuestas en piel de los peces de esta condición, al contrario que en normoxia, no fueron inducidas por LPS y la bacteria inactivada, a excepción de la expresión de *TNF- α* a las 7hpi e *IL-10* a las 48hpi, respectivamente. Aunque son necesarios más estudios, estos resultados contribuyen a identificar marcadores inmunológicos que permitan evaluar la condición sanitaria de *C. gilberti* y a desarrollar adecuadas medidas de control frente a potenciales patógenos.

Introducción

La corvina chilena (*Cilus gilberti*) es una especie marina, perteneciente a la familia *Scienidae*, que se distribuye desde el norte de Perú hasta Puerto Montt en Chile. Y a tenor del crecimiento que ha experimentado la acuicultura a nivel global y en Chile en particular, constituye una de las especies seleccionadas para su domesticación, con el propósito de diversificar el sector en América del Sur. Habiéndose completado el ciclo reproductivo en cautividad, aún se desconocen muchos procesos fisiológicos y patológicos de *C. gilberti*, que serán claves para sostener su cultivo a gran escala. Además, considerando que las zonas programadas para el cultivo de juveniles en el mar, registra frecuentes fluctuaciones en la concentración de oxígeno disuelto (OD), con mínimas de 2-2,5 mg/L. Estas condiciones podrían comportar un factor de estrés crónico en los animales, aumentando su susceptibilidad a padecer infecciones por potenciales patógenos. Por lo que es crucial determinar marcadores inmunológicos que permitan evaluar la condición sanitaria de la corvina bajo cultivo. En este sentido, este trabajo se ha centrado en el estudio del impacto de la hipoxia aguda en la respuesta inmune innata en mucosas de *C. gilberti*.

Material y métodos

Para determinar el impacto del estrés por hipoxia en la respuesta inmunitaria innata de *C. gilberti*, se realizó un bioensayo con 336 juveniles de 17 g de peso promedio inicial. Los peces fueron distribuidos al azar en

12 tanques y divididos en dos grupos experimentales. El primero fue mantenido durante todo el experimento en condiciones de normoxia (7,8 mg/L OD), mientras que el segundo fue expuesto a un evento agudo de hipoxia (2 mg/L OD) durante 3 horas mediante inyección de nitrógeno gaseoso (N₂) en el agua de los tanques. Posteriormente, los animales de ambos grupos normoxia e hipoxia fueron subdivididos en tres grupos e inoculados por baño con: i) PBS (grupo control), ii) LPS de *Vibrio anguillarum* y iii) *V. anguillarum* inactivado con formol. Al inicio del experimento y después de 0, 7, 24 y 48 horas del baño, se recogieron muestras de tejido de piel, branquias e intestino anterior para el análisis mediante RT-qPCR de la expresión génica de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 β , TNF- α) y anti-inflamatorias (IL-10, TGF- β). Además, se analizó la expresión génica del factor transcripcional 1 α inducible por hipoxia (*HIF-1 α*) en branquias.

Resultados y discusión

El análisis de la expresión del gen *HIF-1 α* en branquias mostró a las 0 horas post-baño (hpi) un mayor nivel de ARNm en los peces que fueron expuestos previamente al evento de hipoxia (2 veces de cambio aprox.), disminuyendo a continuación. Esta respuesta contribuye a la tolerancia a la hipoxia (Luo *et al.*, 2021). A este respecto, un estudio anterior con *C. gilberti* reveló su resiliencia a la hipoxia aguda y las altas densidades de cultivo (Álvarez *et al.*, 2020). Por otra parte, confluyeron respuestas inflamatorias y antiinflamatorias similares a nivel de piel hasta las 24 hpi, con un aumento de la expresión de *IL-1 β* a las 48 hpi en los peces no inmunoestimulados expuestos a baja OD. Sin embargo, la exposición a hipoxia afectó negativamente la expresión génica de citoquinas en los peces estimulados, observándose únicamente un ligero aumento de los niveles de *TNF- α* a las 7 hpi inducido por LPS (promedio de 1 vez de cambio) y de *IL-10* por la bacteria inactivada a las 48 hpi. En comparación con una respuesta temprana con tendencia predominantemente inflamatoria más notoria y mediada fundamentalmente por *TNF- α* en los peces estimulados mantenidos en condiciones de normoxia. Caracterizada por un pico de expresión de *TNF- α* a las 7 hpi (5-6,5 veces de cambio de media), iniciando desde las 0 hpi en el caso de los peces estimulados con la bacteria inactivada, y seguido de una respuesta mayoritariamente anti-inflamatoria. Estos resultados sugieren una menor eficacia de las vacunas (Gallage *et al.*, 2016) e inmunoestimulantes administrados bajo condiciones de hipoxia, que podría deberse a un menor nivel de transcrito de receptores de reconocimiento de patógenos, como se ha descrito en otros esciéndidos (Mu *et al.*, 2020). Este hallazgo es relevante para el futuro desarrollo e implementación de estrategias de control profiláctico. Sin embargo, la tetraploidía de la corvina podría explicar la amplia variabilidad de respuestas observada frente a una misma condición, favoreciendo su adaptabilidad a nivel individual.

Palabras Clave:

Cilus gilberti, hipoxia, mucosas, respuesta inmune innata.

Bibliografía

- Luo, S.Y., J.Q. Wang, C. Liu, X.M. Gao, Y.B. Zhang, J. Ding, C.C. Hou, J.Q. Zhu, B. Lou, W.L. Shen, X.F. Wu, C.D. Zhang y D.J. Tang. 2021. Hif-1 α /Hsf1/Hsp70 signaling pathway regulates redox homeostasis and apoptosis in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) under environmental hypoxia. *Zool Res*, 42(6):746-760.
- Álvarez, C.A., I. Jerez-Cepa, C.B., Cárcamo, P. Toledo, H. Flores y K. Brokordt. 2020. Growth performance, physiological responses to hypoxia and flesh quality of Chilean croaker (*Cilus gilberti*) stocked at different densities, *Aquaculture*, 525: 735316.
- Gallage, S., T. Katagiri, M. Endo, K. Futami, M. Endo, y M. Maita. 2016. Influence of moderate hypoxia on vaccine efficacy against *Vibrio anguillarum* in *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). *Fish Shellfish Immunol.*, 51:271-281.
- Mu, Y., W. Li, B. Wu, J. Chen y X. Chen. 2020. Transcriptome analysis reveals new insights into immune response to hypoxia challenge of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Fish Shellfish Immunol.*, 98: 738-747.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos FONDECYT 3200440 y 1230712.

Correo del Autor

belinda.vega@ceaza.cl; claudio.alvarez@ucn.cl