

Aplicación de Calcofluor white y densitometría para el estudio de la pared celular de levaduras biodetoxificantes

ANDREA LORENA CRISTOFOLINI^{1,2}, MARIANA FIORIMANTI^{1,2}, DARÍO ALFONSO¹, ANALÍA FOCESATO^{2,3}, CECILIA INÉS MERKIS¹ Y LILIA RENEE CAVAGLIERI^{2,3}

¹ Área de Microscopía Electrónica, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC). Río Cuarto, Córdoba, Argentina

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

³ Cátedra de Micología, Facultad de Ciencias Exactas Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC). Río Cuarto, Córdoba, Argentina

acristofolini@ayv.unrc.edu.ar

En nuestra zona agrícola-ganadera, la presencia de aflatoxina B₁ en insumos destinados a la nutrición de animales de cría afecta los parámetros productivos, ocasionando cuantiosas pérdidas en la industria regional. Las levaduras constituyen un prometedor modelo biodetoxificante adsorbiendo las micotoxinas. Nuestro grupo ha aislado cepas de *S. cerevisiae* autóctonas del ecosistema animal, las que fueron caracterizadas en su capacidad adsorbente de micotoxinas y en su potencialidad probiótica determinándose que esas propiedades se deben a características de su pared celular, específicamente a la presencia de glucanos. Previamente, hemos puesto a punto la técnica Calcofluor white (CFW) para el estudio de la pared celular de levaduras, resultando ser de bajo costo y específica para la marcación de la porción involucrada en la adsorción. El

objetivo fue evaluar el efecto de las condiciones simuladas del tracto gastrointestinal de un monogástrico, sobre la porción de β -glucanos-quitina en la pared celular de *S. cerevisiae* RC016. Se realizó un ensayo *in vitro* sometiendo la levadura a condiciones simuladas de solución salival, jugo gástrico y fluido intestinal, como control la levadura fue resuspendida en *buffer* fosfato salino. Las levaduras fueron procesadas por la técnica de CFW para determinar la porción correspondiente a β -glucanos-quitina, las imágenes fueron adquiridas en un microscopio epifluorescente y la intensidad de fluorescencia fue determinada mediante un análisis densitométrico con el software Image-Pro Plus 6.0. Se detectaron diferencias significativas en la intensidad de fluorescencia en todos los tratamientos ($p < 0,05$). La cuantificación de los β -glucano-quitina, se incrementó significativamente durante su pasaje por solución salival y en jugo gástrico, disminuyendo en fluido intestinal ($p < 0,05$). Esto coincide con un análisis morfométrico previo, en donde se determinó un aumento significativo del espesor de la pared celular en solución gástrica y un adelgazamiento luego de su pasaje por fluido intestinal; de esta manera, las condiciones del tracto gastrointestinal estarían provocando cambios en la conformación de la red estructural de β -glucano-quitina. Las diferencias encontradas se hallan directamente relacionadas con la capacidad de la cepa para actuar como bioadsorbente de aflatoxina B₁, ya que en ensayos anteriores presentó el mayor porcentaje de adsorción (95,3 %) a nivel del estómago simulado. De esa manera, las condiciones del tracto gastrointestinal modificarían la estructura y composición de la pared celular, afectando su capacidad de adsorción de aflatoxina B₁. Estos resultados ratifican la aplicación de *S. cerevisiae* RC016 como un excelente bioadsorbente de aflatoxina B₁ bajo estas condiciones, constituyendo una importante herramienta biotecnológica.

Palabras clave: levaduras, micotoxinas, bioadsorbente.