

EFFECTOS DE LA ADICIÓN DE COMPUESTOS FOTOPROTECTORES EN LA DIETA DEL LANGOSTINO *PLEOTICUS MUELLERI*

Arzoz, Natalia Soledad ^a, Díaz, Ana Cristina ^{a, b}, Marcoval, María Alejandra ^b

a- Comisión de Investigaciones Científicas, Pcia. Buenos Aires, Argentina.

natiarzoz@gmail.com- acdiaz@mdp.edu.ar.

b- Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (UNMdP, CONICET), Mar del Plata
marcoval@mdp.edu.ar

El langostino *Pleoticus muelleri* y el camarón *Artemesia longinaris* son especies de interés comercial distribuidas en la región sudoeste del Océano Atlántico, desde el sur de Brasil hasta la Patagonia (23-50 °S). Durante las pasadas dos décadas, se ha evidenciado un incremento de la radiación ultravioleta (RUV) y particularmente la UVB (280-315nm) sobre la superficie terrestre. Si bien los camarones penaeoideos son especies costeras que habitan en general a profundidades mayores a los 10m, bajo condiciones de cultivo se mantienen en estanques de 2 metros de profundidad, por lo que están expuestos a condiciones ambientales extremas.

Desde el punto de vista nutricional, se ha demostrado que ciertos aditivos alimentarios, aumentan la capacidad de las defensas antioxidantes en crustáceos como por ej: las vitaminas (Díaz *et al.*, 2004), los carotenoides (Díaz *et al.*, 2013) y los prebióticos (Hou & Chen, 2005; Fu *et al.*, 2007). Actualmente se orienta la búsqueda hacia nuevos aditivos que actúen también sobre la salud de los animales cultivables. En este sentido, las macroalgas pueden constituir una alternativa interesante en virtud de sus propiedades nutritivas, entre las que se encuentran una alta concentración de proteínas, fibra dietética, minerales traza (Mg, Ca, K, P y I), vitaminas, lípidos, esteroides y aminoácidos (Jiménez-Escrig & Goñi Cambrodón, 1999), todos los cuales son considerados esenciales en una dieta que promueve la salud. Además de sus componentes nutritivos contienen compuestos bioactivos de alta capacidad antioxidante, como carotenoides, polifenoles y polisacáridos sulfatados que pueden ser utilizados para controlar la producción excesiva de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ROS) (Díaz *et al.*, 2017)

Varios factores ambientales, tales como la RUV, nutrientes, salinidad, fotoperiodo, afectan la producción de compuestos fotoprotectores (Marcoval *et al.*, 2007; 2008). Los organismos desarrollaron distintas estrategias protectoras: algunos metabolitos celulares, como la melanina, protegen directamente a las células de la injuria por RUV, absorbiendo la radiación y evitando el daño en el ADN; mientras que los pigmentos carotenoides, proveen una protección indirecta neutralizando las ROS producidas por la exposición a la radiación. Un grupo de metabolitos celulares conocidos colectivamente como aminoácidos de tipo micocoporinas (MAAs) también se propusieron como compuestos fotoprotectores (Rastogi *et al.*, 2010), ya que absorben la RUV entre 310 y 360nm. Son considerados además metabolitos multipropósito, con una variedad de funciones que incluyen su capacidad antioxidante, como pigmentos accesorios para la fotosíntesis, almacenamiento de nitrógeno, entre otras. Las MAAs exhiben una alta actividad antioxidante, por secuestro de los aniones superóxido y por inhibición de la peroxidación lipídica resultante de la producción de ROS por efecto de la RUV. Estos compuestos son sintetizados por bacterias, hongos y algas (Korbee *et al.*, 2006) y su concentración puede inducirse por exposición a la radiación PAR (*photosynthetically available radiation*, 400-700nm) y a la RUV (Hernando *et al.*, 2012).

Existe evidencia que en algunos animales los compuestos que absorben RUV se bioacumulan a través de la dieta, ofreciendo protección no sólo a sus productores sino también a los consumidores a través de la cadena trófica (Helbling *et al.*, 2002). La mayoría de los estudios experimentales sobre el efecto de la RUV sobre organismos marinos se realizó sobre el zooplancton, focalizándose en pequeños animales como los copépodos o larvas de crustáceos (Marcoval *et al.*, 2013) utilizándose la mortalidad como una medida de su efecto.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la bioacumulación de compuestos fotoprotectores a partir de una dieta adicionada con harina de algas rojas en juveniles de *P.muelleri* y su posible efecto protector bajo condiciones de stress por radiación ultravioleta (RUV).

Métodos

Preparación de aditivos dietarios

Para la utilización de macroalgas como aditivo, se realizaron muestreos y recolección de diferentes macroalgas (Rodophyceae, Phaeophyceae y Chlorophyceae) en el puerto y costa de Mar del Plata, (Balneario Waikiki 38° 04' 50 S, 57° 30' 08 W) y posteriormente se realizó la determinación de compuestos fotoprotectores. Para el análisis de compuestos se empleó como base el método de Karsten *et al.* (1998) y la concentración se calculó teniendo en cuenta los picos de absorbancia (250-400 nm) utilizando la siguiente fórmula: $DO\ mg^{-1}$. El análisis de los datos se realizó utilizando el programa Origin 6.0.

Bioacumulación de compuestos fotoprotectores en *P. muelleri* alimentados con dietas adicionadas con alga roja

Para evaluar el efecto de variaciones de radiación ultravioleta se emplearon juveniles recolectados en la costa de Mar del Plata (38°S 57° 33'W) y se realizaron experimentos de exposición a la RUV. Los animales fueron alimentados diariamente con las diferentes dietas: Dieta base (B) (45% de proteínas, 8% de lípidos, 7% de agua y 7% de cenizas), Dieta B1: dieta base adicionada con harina de algas rojas al 1% (1g/100g dieta) y Dieta B2: dieta base adicionada con harina de algas rojas al 2% (2g/100g dieta). Como fuente de luz se utilizaron bombillas fluorescentes blancas de 40W (Philips) para el tratamiento PAR (luz fotosintéticamente activa) y lámparas Q-Panel 340 para los tratamientos de RUV, las cuales se colocaron 20 cm por encima de los tanques y el ciclo de exposición a la RUV fue de 4 hs diarias.

Los diferentes tratamientos lumínicos y de alimentación fueron los siguientes:

- Tratamiento a : radiación fotosintéticamente activa (PAR 400-700nm) y dieta B
- Tratamiento b: radiación PAR + RUV adicional (280-700nm) y dieta B
- Tratamiento c: radiación PAR + RUV adicional (280-700nm) y dieta B1
- Tratamiento d: radiación PAR + RUV adicional (280-700nm) y dieta B2

Previo al experimento de radiación, con el objetivo de que se produjera una posible acumulación de compuestos fotoprotectores, se mantuvieron los animales durante 15 días en 3 tanques de PVC de 2000 litros con 16 animales cada uno y fueron alimentados diariamente con las diferentes dietas: B, B1 y B2. Al finalizar el experimento se determinó porcentaje de incremento en peso, sobrevivencia; concentración de carotenos y compuestos fotoprotectores, para cada tratamiento. Para

comparar y determinar el grado de significación de los resultados de incremento en peso y concentración de compuestos de los distintos tratamientos se llevo a cabo un análisis de varianza (ANOVA). La significación fue $p < 0,05$ (Sokal & Rohlf, 1995).

Resultados

Las mayores concentraciones de compuestos fotoprotectores se registraron en el grupo de las Rodophyceas (algas rojas). La concentración más alta ($0,340 \text{ DO mg}^{-1}$) se determinó en un alga introducida en el puerto de Mar del Plata perteneciente a la familia Halymeneaceae; seguida de algas del género *Porphyra* (recolectadas en el balneario Waikiki) cuya concentración fue $0,170 \text{ DO mg}^{-1}$. Ambas algas presentaron importantes picos de absorbancia entre 310-360 nm, característicos de compuestos fotoprotectores conocidos como aminoácidos de tipo micosporinas (MAAs). A partir de los resultados del análisis de compuestos fotoprotectores se seleccionó, para utilizar como aditivo en dietas para especies de camarones penaeoideos, el alga roja perteneciente a la familia Halymeneaceae.

Al finalizar el experimento de radiación se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos sin y con RUV (a y b) siendo el porcentaje de incremento en peso significativamente mayor en los animales que no fueron expuestos a la RUV (19%). Respecto de los tratamientos bajo RUV (b, c y d), también se registraron diferencias significativas entre los animales alimentados con dietas adicionadas con alga roja (B1 y B2) y los alimentados con dieta base (B); los porcentajes fueron 10; 11 y 4 %, respectivamente (Tabla 1). En cuanto al porcentaje de sobrevivencia se registro una disminución de la misma en los animales que fueron expuestos a RUV, respecto a los del tratamiento control. Entre los animales que fueron alimentados con las diferentes dietas, el mayor porcentaje se registro en los que fueron alimentados con dieta D1 (tratamiento c).

Tabla 1: Peso medio inicial (PMI), peso medio final (PMF), porcentaje de incremento en peso (PIP) y porcentaje de sobrevivencia (S) en *P. muelleri* después de 7 días de exposición. Los superíndices a, b y c indican diferencias significativas entre tratamientos.

| Experimento de radiación | | | | |
|--------------------------|-----------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| | a-CONTROL PAR DIETA B | b-PAR+RUV DIETA B | c-PAR+RUV DIETA B1 | d- PAR+RUV DIETA B2 |
| PMI | 7.35 ± 1.29 | 4.79±1.20 | 3.13± 0.78 | 5,42±2,28 |
| PMF | 8.77± 1.55 | 4.98± 1.31 | 3.45± 0.86 | 6,05±2,02 |
| PIP | ^a 19 | ^b 4 | ^c 10 | ^c 11 |
| S | 100 | 20 | 67 | 40 |

La concentración de compuestos fotoprotectores y carotenos se determinó como DO g^{-1} en tegumento de los animales alimentados con las diferentes dietas (Figura 1). Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$), registrándose los mayores valores en los animales alimentados con dieta B1 correspondientes al tratamiento c (compuestos fotoprotectores: $0,89 \pm 0,43 \text{ DO g}^{-1}$; carotenoides: $0,49 \pm 0,14 \text{ DO g}^{-1}$).

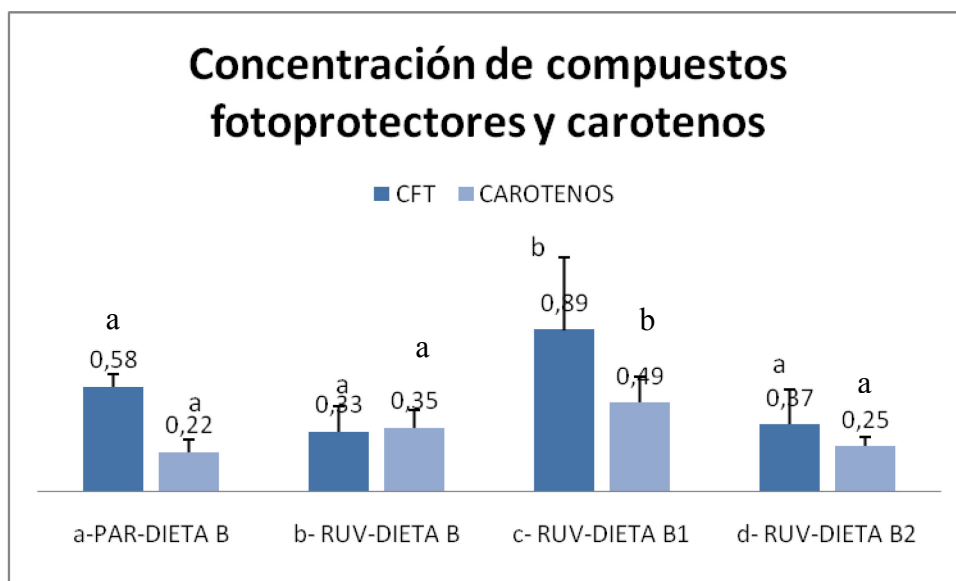


Figura 1: Concentración de compuestos fotoprotectores (CFP) y carotenoides (C) en *P. muelleri* en los diferentes tratamientos, después de 7 días de exposición. CFP: compuestos fotoprotectores 321nm (DO g⁻¹), C: Carotenoides 464nm (DO g⁻¹). Los superíndices a y b indican diferencias significativas entre tratamientos.

Conclusiones

A partir de los resultados del análisis de compuestos fotoprotectores se seleccionó, para utilizar como aditivo en dietas para especies de camarones penaeoideos, el alga roja perteneciente a la familia Halymeneaceae, que constituye una alternativa interesante; no solo por su alta concentración de compuestos fotoprotectores, sino por la particularidad de ser una especie invasora con potencial uso comercial. Los resultados sugieren que bajo condiciones de stress (RUV), una dieta adicionada con algas ricas en compuestos fotoprotectores contribuye a un mejor estado fisiológico de los animales en cultivo.

Bibliografía

- Díaz, A.C.; Fernández Giménez, A.V.; Mendiara, S.N. & Fenucci J.L. 2004. Antioxidant activity in Hepatopancreas of the Shrimp (*Pleoticus muelleri*) by Electron Paramagnetic spin Resonante Spectometry J. Agric. Food. Chem., 52: 3189-3193.
- Díaz A.C., Velurtas, S.M.; Mendiara, S.N. & Fenucci, J.L. 2013. Correlation between radical scavenging capacity and carotenoid profile during larval development of *Pleoticus muelleri*. Invertebrate Reproduction & Development, 51(1): 43-48.
- Díaz A.C; Espino M.L.; Arzoz, N. S.; Velurtas S.M.; Ponce N.M.A; Stortz, C.A. & Fenucci J.L.2017. Free radical scavenging activity of extracts from seaweeds *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida*: applications as functional food in the diet of prawn *Artemesia longinaris*. Latin American Journal of Aquatic Reserch 45 (1): 104-112.

- Fu, Y. W.; Hou, W. Y.; Yeh, S. T.; Li, C. H. & Chen, J. C. 2007. The immunostimulatory effects of hot-water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 22: 673-685.
- Helbling, E.W.; Menchi, C.F. & Villafañe, V.E. 2002. Bioaccumulation and role of UV-absorbing compounds in two marine crustacean species from Patagonia, Argentina. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 1: 820-825.
- Hernando, M.P.; Carreto, J.I.; Carignan, M. & Ferreyra, G.A. 2012. Effect of vertical mixing on short-term mycosporine-like amino acid synthesis in the Antarctic diatom, *Thalassiosira* sp. *Scientia Marina*, 76(1): 49-57.
- Hou, W. Y & Chen, J. C. 2005. The immunostimulatory effect of hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* on the white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, 19: 127-138.
- Jiménez-Escrig, A. & Goñi Cambrodón, I. 1999. Evaluación nutricional y efectos fisiológicos de macroalgas comestibles. *Arch. Latinoam. Nutr.*, 49(2): 114-120.
- Korbee, N.; Figueroa, F.L. & Aguilera, J. 2006. Acumulación de aminoácidos tipo micospolina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. *Revista Chilena de Historia Natural*, 79: 119-132.
- Marcoval, M.A.; Villafañe, V.E. & Helbling, E.W. 2007. Interactive effect of ultraviolet radiation and nutrient addition on growth and photosynthesis performance of four of marine phytoplankton. *Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 89: 78-87.
- Marcoval, M.A.; Villafañe, V.E. & Helbling, E.W. 2008. Combined effects of solar ultraviolet radiation and nutrients addition on growth, biomass and taxonomic composition of coastal marine phytoplankton communities of Patagonia. *Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 91:157-166.
- Marcoval, M.A.; Pan, J.; Díaz, A.C., Velurtas, S.M. & Fenucci, J.L. 2013. Survival and development of larvae and postlarvae of *Pleoticus muelleri* using *Artemia* sp. and *Pavlova* sp. UV- irradiate like food .COLACMAR 2013, Punta del Este, Uruguay.
- Rastogi, R.P.; Sinha, R.P.; Singh, S.P. & Häder, D.P. 2010. Photoprotective compounds from marine organisms. *J Indus. Microbiol. Biotechnol.*, 37: 537-558.