

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE Estudio **PERIODO** 01/04/2012 a 31/03/2014

1. **APELLIDO:** Espino

NOMBRES: María Laura

Dirección Particular: Calle: **N°:**

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:**

Dirección electrónica (donde desea recibir información): mlespino@mdp.edu.ar

2. **TEMA DE INVESTIGACIÓN** (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

Efectos de aditivos dietarios y la salinidad sobre las defensas antioxidantes y el nivel de estrés oxidativo en *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri*, expuestos a compuestos nitrogenados inorgánicos

3. **OTROS DATOS** (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/2012

2º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/2013

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:*

2º AÑO: *Fecha de iniciación:*

4. **INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS**

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional de Mar del Plata

Facultad: Ciencias Exactas y Naturales

Departamento: Ciencias Marinas

Cátedra: Fisiología de Crustáceos

Otros: Grupo de Investigación Acuicultura

Dirección: Calle: Funes **N°:** 3350

Localidad: Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:**

5. **DIRECTOR DE BECA**

Apellido y Nombres: Díaz Ana Cristina

Dirección Particular: Calle: **N°:**

Localidad: Mar del plata **CP:** 7600 **Tel:**

Dirección electrónica: acdiaz@mdp.edu.ar

6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO. (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

El objetivo general del primer año de beca de estudio fue determinar los efectos fisiológicos provocados por la exposición ambiental al nitrito en el langostino *Pleoticus muelleri*. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos: 1) Determinar la LC50 al nitrito y caracterizar sus efectos sobre las defensas antioxidantes de dicha especie; 2) Analizar la presencia de radicales propios y/o persistentes en el tejido hepatopancreático de langostinos expuestos a diferentes concentraciones de nitrito y 3) Identificar el daño tisular producido por la exposición al nitrito mediante el examen histológico del hepatopáncreas y las branquias.

1) Toxicidad aguda al nitrito y caracterización de las defensas antioxidantes:

En los sistemas de cultivo intensivo de crustáceos, la elevada densidad de animales puede provocar la acumulación de altas concentraciones de desechos nitrogenados altamente tóxicos, como por ejemplo el nitrito. La exposición a altas concentraciones de este poluyente, puede afectar la fisiología general y provocar el incremento de la mortalidad de los organismos acuáticos. Un desequilibrio en la generación de radicales libres, es considerado un factor de estrés fisiológico; por lo tanto, la medición de la capacidad antioxidante total (AT) puede ser utilizada para estimar los efectos sobre las defensas antioxidantes en estos animales. Los objetivos de este estudio fueron determinar la concentración letal media (LC50) al nitrito y caracterizar sus efectos sobre las defensas antioxidantes totales en el langostino *Pleoticus muelleri*.

Con el fin de obtener la LC50, se llevaron a cabo por triplicado ensayos estáticos de toxicidad aguda a concentraciones crecientes de nitrito (100; 200; 300; 400; 500; 750; 1000; 1250 y 1500mg/l), utilizando como controles individuos mantenidos en agua libre de nitritos. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis Probit. Finalizados los ensayos, el tejido hepatopancreático de los sobrevivientes fue utilizado para la determinación de la capacidad AT, que fue estimada mediante espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) empleando, como método de análisis, la capacidad de los radicales presentes en el tejido para reaccionar con un radical estable, el 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH).

La LC50 determinada para el nitrito a las 96 horas del ensayo estático fue 170,56mg/l, observándose una disminución de este valor ante el incremento del tiempo de exposición. El grado de confiabilidad de estos resultados se estableció mediante el test Chi-cuadrado. La capacidad AT se midió en individuos expuestos a 100; 200; 400 y 500mg/l de nitrito. Todos los tratamientos testeados mostraron capacidad de scavenging de radicales, que se evidenció por su habilidad para reaccionar con el radical DPPH. El porcentaje de decaimiento en función del tiempo fue mayor en los langostinos expuestos a concentraciones de nitritos cercanas a la LC50 (100 y 200mg/l). Sin embargo, en todos los casos se determinaron diferencias significativas respecto del control.

En conclusión, se puede decir que en *P. muelleri* la toxicidad al nitrito incrementa con el tiempo de exposición y que la presencia de concentraciones subletales de nitrito en el medio aumenta la actividad del sistema de defensas antioxidantes. A partir de los resultados obtenidos en este estudio, la medición de la capacidad AT puede ser propuesta como biomarcador de polución por nitritos.

Estos resultados fueron presentados en el XIV Congreso y XXXII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario, Casilda, 29 y 30 de noviembre de 2012.

2) Análisis de la presencia de radicales propios en el hepatopáncreas de langostinos expuestos a nitrito:

La presencia de sustancias tóxicas en el ambiente puede estimular la formación intracelular de radicales libres. Para equilibrar esta respuesta, los organismos vivos disponen de una serie de sistemas de defensas antioxidantes que contrarrestan la generación de radicales libres. Estos sistemas están formados por componentes enzimáticos y no enzimáticos. En condiciones fisiológicas normales, los mecanismos de defensa antioxidantes mantienen una baja concentración de especies reactivas del oxígeno y radicales libres en la célula; el equilibrio entre su producción y las defensas antioxidantes determina el grado de estrés oxidativo. Por lo tanto, la existencia de un pool de radicales in vivo dependerá del balance entre diversos procesos: aquellos que conducen hacia la formación de sustancias protectoras, los que liberan radicales reactivos y los que generan radicales persistentes.

El objetivo de este estudio fue analizar la presencia de radicales persistentes en el tejido hepatopancreático del langostino *Pleoticus muelleri*, expuesto a diferentes concentraciones de nitrito ambiental. Langostinos juveniles de ambos sexos fueron sometidos, por triplicado a concentraciones de nitrito de 0; 100; 200; 400 y 500mg/l de nitrito durante 96 horas. Finalizados los ensayos, los hepatopáncreas de los sobrevivientes se congelaron y posteriormente se liofilizaron. La presencia de radicales persistentes se determinó mediante espectroscopia de resonancia paramagnética utilizando un espectrómetro Bruker Xepr V1.0. Para las mediciones se utilizaron alícuotas de 100µl de homogenatos preparados con 20mg de liofilizado y 200µl de cloroformo. Se realizan mediciones por duplicado y a distintos tiempos. Un análisis de varianza fue empleado para evaluar las diferencias entre los tratamientos.

En todas las muestras se registró una amplia señal que sugirió la presencia de radicales persistentes en el tejido. Se estimó una concentración de entre 10^{-4} y 10^{-5} M en cada uno de los tratamientos; sin embargo el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre las concentraciones de nitrito utilizadas. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede decir que el sistema de defensas antioxidantes de *P. muelleri* es capaz de mantener la concentración del pool de radicales propios en condiciones de estrés, provocado por la exposición al nitrito.

3) Estudio histológico de los efectos del nitrito sobre el hepatopáncreas y las branquias: Para evaluar el daño tisular producido por la exposición al nitrito se realizó el examen histológico de branquias y hepatopáncreas del langostino *Pleoticus muelleri*. Se utilizaron animales provenientes de un ensayo estático de toxicidad aguda de 96hs de duración, a concentraciones crecientes de nitrito (0; 100; 200; 300; 400; 500; 750 y 1000mg/l). El cefalotórax de cada individuo se fijó en el fluido Davison durante 12 hs (etanol, formol, ácido acético y agua) (Bell & Lightner, 1988), posteriormente se deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol, alcohol butílico y se incluyeron en butil-parafina y parafina. Se efectuaron cortes de 5 µm, que fueron coloreados con hematoxilina-eosina.

Para la evaluación de los cambios histológicos en el hepatopáncreas, se utilizaron las caracterizaciones realizadas Cuartas et al. (2002). En el caso de las branquias, previamente se realizó una breve descripción de su morfología e histología en estado salvaje.

a) Hepatopáncreas:

El hepatopáncreas es un glándula tubular compuesta, cada túbulo está formado por un epitelio simple con cuatro tipos celulares, que según su función se diferencian células embrionarias (E), fibrilares (F); absorptivas (R) y digestivas (B).

La histología del hepatopáncreas es muy estudiada en animales expuestos a distintos estresantes, ya que además de realizar funciones digestivas, es el órgano encargado de la detoxificación de muchos compuestos. En este estudio, tanto en el tratamiento control como en el de 100mg/l de nitrito no presentaron alteraciones tisulares. La

exposición de los langostinos a 200mg/l de nitrito provocó un incremento en el número de células B, que presentaron su característica vesícula de gran tamaño llena de secreción, además de presentar un complejo vacuolar apical; también se observaron zonas con hiperplasia. El incremento de nitrito ambiental, 300 y 400mg/l, acentuó la hiperplasia y provocó la distorsión de la estructura tubular; en cuanto a la citología, las células comenzaron a perder su identidad, observándose algunas células en forma de botella. A concentraciones superiores de nitrito, aparecen espacios intertubulares, las células presentan una mayor vacuolización dando la apariencia de células foamy, además de observarse protrusión citoplasmática hacia la luz tubular; sólo las células F pueden ser claramente identificables debido a que mantienen su citología característica. A 1000mg/l de nitrito no pueden ser identificados ninguno de los distintos tipos celulares debido a la pérdida de la identidad celular.

b) Branquias:

El langostino *Pleoticus muelleri* realiza el intercambio gaseoso a través de estructuras especializadas denominadas dendrobranquias, ellas se disponen a los lados del cefalotórax en la base de los apéndices torácicos (maxilípedos y periópodos). Estas branquias, consisten de un eje central de tejido conectivo donde se disponen las laminillas branquiales, las mismas se ramifican en filamentos primarios y secundarios.

Cada laminilla consta de un septo de tejido conectivo que separa el canal aferente del eferente, y de un epitelio simple con al menos dos tipos celulares. Uno de ellos posee un núcleo comprimido y una considerable expansión lateral, dando un aspecto de epitelio escamoso en la zona del canal marginal. El otro tipo celular, conecta las dos superficies cuticulares de la laminilla y limita los espacios lagunares que definen el flujo hemolinfático, cumpliendo una función de sostén. Según Taylor y Taylor (1992), las características mencionadas anteriormente concuerdan con las llamadas Thin cells, en el caso del primer tipo celular y Pillarcells en el segundo caso.

El tratamiento con nitrito provocó desorganización epitelial y plegamiento de la cutícula, ambos efectos se acentúan con el incremento de este poluyente. En la exposición a 400mg/l de nitrito se observan los canales marginales distorsionados. Además de estas histopatologías, se observa edematización de la laminilla con el tratamiento de 500mg/l de nitrito. Concentraciones superiores de nitrito ambiental produjeron, además de la presencia de lagunas subcuticulares, el colapso de la laminilla. A 1000mg/l de nitrito se detectó interrupción de la cutícula con el consiguiente deterioro de la laminilla branquial, este efecto se evidencia por la pérdida de la estructura epitelial.

Los cambios tisulares observados en el hepatopáncreas y las branquias de *P. muelleri* permiten establecer que el análisis histológico de estos órganos puede ser utilizado como un biomarcador de polución por nitrito en dicha especie.

El objetivo de este segundo año de Beca de Estudio fue testear el estrés oxidativo mediante el estudio de la actividad antioxidante total (AT) y las variables metabólicas hemolinfáticas en camarones penaeoideos sometidos a diferentes condiciones de cultivo. Para ello se plantearon las siguientes estrategias metodológicas: 1) Incorporación de extractos del alga *Undaria pinnatifida* en la dieta de *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri*; 2) Exposición al nitrito de langostinos aclimatados a diferentes salinidades.

1) Extracto de *Undaria pinnatifida* como suplemento dietario para camarones penaeoideos

El estado fisiológico de los crustáceos y de muchos organismos acuáticos depende de los factores del medio que los rodea, entre los cuales el alimento es uno de los

principales por aportar las moléculas base: glucosa, proteínas y lípidos, utilizadas como fuente de energía y de moléculas estructurales. En los camarones, estos metabolitos son transportados por la hemolinfa, que además de ser el tejido de transporte, es uno de los principales tejidos de reserva de estos nutrientes, por lo que pueden ser utilizados como indicadores del estado nutricional. El metabolismo básico de un organismo aerobio involucra la formación de radicales libres (RL) y especies reactivas del oxígeno (ROS). Para controlar esa producción, los sistemas biológicos cuentan con mecanismos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. Sin embargo, una pequeña proporción (2-3%) de RL y ROS pueden evadir esta protección, provocando daño celular. La incorporación de antioxidantes, sustancias que atrapan o inhiben la generación de ROS y RL, en la dieta de estos organismos puede mejorar su estado fisiológico general. Recientemente, los extractos de muchas algas marinas mostraron poseer propiedades antioxidantes, que se atribuyen a la presencia de polisacáridos. *Undaria pinnatifida*, es un alga parda utilizada en muchas partes del mundo como recurso alimenticio; sin embargo, aún no se ha estudiado los efectos de la utilización de sus extractos como aditivos en las dietas de camarones.

El objetivo de este estudio fue determinar los efectos de la incorporación de extractos del alga *U. pinnatifida* en las dietas de *A. longinaris* y *P. muelleri* sobre la concentración de metabolitos y la actividad antioxidante total (AT).

A partir de la harina *U. pinnatifida* se prepararon los extractos siguiendo el método de Fujiki et al. (1992). Langostinos y camarones juveniles fueron alimentados durante 4 semanas con dietas suplementadas con los extractos de *U. pinnatifida* (Dieta 1: 1g de extracto/100g de dieta; Dieta 2: 2g de extracto/100g de dieta), como controles fueron utilizados animales alimentados con una dieta sin aditivos. Transcurrido este periodo, fue extraída aproximadamente 200-300µl de hemolinfa para la cuantificación de los metabolitos (glucosa, proteínas, triglicéridos, colesterol); la hemolinfa se colocó en solución anticoagulante de citrato de sodio al 10% y se centrifugó a 600g durante 15 minutos. Además, el hepatopáncreas fue aislado y utilizado para el análisis de la AT, que fue estimada mediante espectroscopia de resonancia electrónica paramagnética (EPR) empleando, como método de análisis, la capacidad de los radicales presentes en el tejido para reaccionar con un radical estable, el 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Para comparar y determinar el grado de significación de los resultados obtenidos en cuantificación de metabolitos se realizó un análisis de ANOVA y una correlación de Pearson; y en los ensayos de AT se llevó a cabo un análisis de co-varianza (ANCOVA).

El estudio de las variables hemolinfáticas determinó que no existe correlación entre la concentración de los metabolitos analizados y la concentración de aditivo dietario, en ninguna de las especies. En la Figura 1 (Anexo I), se puede observar que la Dieta 1 provoca el incremento de los niveles de todos los metabolitos en *A. longinaris*, si bien la cuantificación sólo determinó diferencias significativas en la concentración de las proteínas y del colesterol. En el caso de los langostinos, no hubo diferencias significativas entre la concentración de las variables metabólicas de las dietas suplementadas con extractos de *U. pinnatifida* y la dieta control (Tabla 1, Anexo I).

Todos los tratamientos mostraron actividad antioxidante evidenciada por la capacidad de reaccionar con el radical DPPH, lo que indica que el tejido es un antioxidante natural. Para todas las dietas, dicho radical fue consumido casi por completo en ambas especies; sin embargo, el tiempo transcurrido fue de 30' en *A. longinaris* y de 16 minutos en *P. muelleri*. En los camarones, ambas dietas provocaron el incremento de la AT respecto del control, a su vez la Dieta 2 mostró mayor actividad que la Dieta 1, detectándose a los 20 minutos un porcentaje remanente de DPPH del 29; 10 y 2%,

respectivamente. En el caso de los langostinos, la AT a los 3 minutos fue similar para la Dieta 1 (57%) y la dieta control (46%); sin embargo, se determinó una mayor capacidad antioxidante con la adición de concentraciones superiores del extracto de *U. pinnatifida* (Dieta 2: 31% DPPH remanente).

En conclusión, el extracto de *U. pinnatifida* se propone como suplemento dietario para estimular las defensas antioxidantes y mejorar el estado nutricional de *A. longinaris* y *P. muelleri*. Futuros estudios determinarán si la incorporación de concentraciones superiores de este aditivo, son requeridos para lograr optimizar sus efectos.

2) Influencia de la salinidad sobre la toxicidad del nitrito en *Pleoticus muelleri*

Debido al gran interés comercial que existe actualmente por el cultivo intensivo de peneidos en la Argentina, el langostino *Pleoticus muelleri* está siendo sometido a experiencias de acuicultura. En estos sistemas de cultivo intensivo, la elevada densidad de animales puede provocar la acumulación de altas concentraciones de desechos nitrogenados, altamente tóxicos. El más común de los compuestos nitrogenados es el nitrito, el cual incrementa sus niveles como resultado de un desbalance de la actividad de las bacterias nitrificantes. La exposición a altas concentraciones de este compuesto, puede afectar la fisiología general y provocar el incremento de la mortalidad de los organismos acuáticos. Uno de los factores que afectan la toxicidad del nitrito en los ambientes acuáticos es la salinidad. El estrés provocado por la exposición a los compuestos nitrogenados inorgánicos como así también cambios en la salinidad, pueden afectar la concentración de metabolitos tales como glucosa, lípidos y proteínas, además de provocar estrés oxidativo.

El objetivo de este estudio fue establecer el efecto sobre las variables metabólicas y la AT, en langostinos aclimatados a diferentes salinidades y expuestos a nitrito.

Langostinos de ambos sexos fueron aclimatados durante 3 semanas a 25ups y 30ups de salinidad, como controles se utilizaron animales mantenidos a 33ups de salinidad. Posteriormente, los individuos fueron expuestos a 0; 50 y 100mg/l de nitrito por 96hs. Finalizado el ensayo, se les extrajo, a los sobrevivientes, el hepatopáncreas para la determinación de la AT mediante espectroscopía de resonancia magnética y 200-300µl de hemolinfa para la cuantificación de los metabolitos con kits comerciales.

La medición de la AT determinó que el tejido hepatopancreático de *P. muelleri* es un antioxidante natural, debido a la de reacción del tejido con el radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). La capacidad antioxidante, de los langostinos mantenidos a 33ups de salinidad, no fue afectada por la exposición al nitrito (Figura 1A, Anexo II). Por el contrario, la presencia de nitrito en el ambiente provocó variaciones de las defensas antioxidantes de los animales aclimatados a 30ups y a 25ups de salinidad. En el primer caso, la exposición a 50mg/l de nitrito mostró un incremento de la AT respecto del control; sin embargo, el aumento del nitrito ambiental a 100mg/l produjo una disminución de la capacidad antioxidante. En el segundo caso, a 25ups de salinidad la presencia de nitrito causó el aumento de la AT, detectándose a los 6 minutos de reacción un 6% de DPPH remanente, en ambos tratamientos con nitrito, y un 47% en el control (Figura 1B y C, Anexo II).

El análisis de Pearson determinó que existe correlación entre la concentración de alguno de los metabolitos estudiados y el incremento de los niveles ambientales de nitrito, de los ejemplares mantenidos en las diferentes salinidades. En los langostinos mantenidos a 33ups de salinidad, los triglicéridos mostraron correlación negativa con el nitrito; en el caso de los aclimatados a 30ups la correlación fue positiva para los niveles

de glucosas y proteínas; y en los animales aclimatados a 25ups fue negativa para la glucosa (Tabla 1, Anexo II).

En conclusión, independientemente de las condiciones osmóticas del medio, la exposición de *P. muelleri* al nitrito modifica los niveles hemolinfáticos de los metabolitos estudiados. Por el contrario, el sistema de defensas antioxidantes es afectado en condiciones hiposmóticas. En base a los resultados obtenidos, se puede decir que la medición de AT puede ser propuesta como biomarcador estrés osmótico y de polución por nitrito; sin embargo, el análisis de las variables metabólicas sólo puede ser utilizado como indicador de exposición al nitrito.

7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.

7.1. PUBLICACIONES. Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA. (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

Effects of exposure to nitrite on the antioxidant enzymes activity and the histopathological response of prawn *Palaemonetes argentinus*.

Espino, María Laura, Díaz, Ana Cristina & Velurtas, Susana María

7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN. (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

Acute toxicity of nitrite to *Pleoticus muelleri* postlarvae with dietary astaxanthin supplementation: Effects on histopathology and scavenging capacity

Ana Cristina Díaz, Susana M. Velurtas, María Laura Espino & Jorge L. Fenucci

7.5. COMUNICACIONES. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS. (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

8.1. DOCENCIA

8.2. DIVULGACIÓN

8.3. OTROS

9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS. (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

-XXIX Congreso Argentino de Química, "Centenario de la asociación química argentina", Mar del Plata, 3 al 5 de octubre de 2012.

ESPINO, M. L.; VELURTAS, S.M. & DIAZ, A. C. Efectos del nitrito sobre las defensas antioxidantes del camarón *Palaemonetes argentinus* expuestos a diferentes condiciones osmótica.

-XIV Congreso y XXXII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario, Casilda, 29 y 30 de noviembre de 2012.

ESPINO, MARÍA LAURA; VELURTAS, SUSANA M.; DÍAZ, ANA CRISTINA; FENUCCI, JORGE L. Efectos del nitrito sobre las defensas antioxidantes del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Solenoceridae).

10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

-Bioseguridad. Docentes responsables: Dra. Graciela Lidia Salerno; Dra. Susana B. Goldstein de Fink; Dra. Carmen Graciela Stanganelli y Dr. Horacio G. Pontis. Cursado del 4 al 8 de junio de 2012. UNMdP. O.C.A. N°: 741/11. Otorga: 2 UVAC.

-Epistemología. Docente responsable: Dr. Denegri Guillermo María. Cursado del 2 al 7 de julio de 2012. UNMdP. O.C.A. N°: 576/11; 833/11. Otorga: 2 UVAC.

-Espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR): Teoría y Aplicaciones. Docente responsable: Dra. Grela María Alejandra. Cursado del 30 de julio al 10 de agosto de 2012. UNMdP. O.C.A. N°: 1195/12. Otorga: 3.5 UVAC.

-Biología de Crustáceos: un enfoque actual. Docentes responsables: Díaz, A. Cristina y Obenat, Sandra. Cursado del 22 al 27 de octubre de 2012. UNMdP. O.C.A. N°: 1202/12. Otorga: 3 UVAC.

-Bioindicadores: Evaluación y monitoreo de ambientes acuáticos impactados por medio de organismos. Docentes responsables: Elías, Rodolfo y Vallarino, Eduardo A. Cursado del 10 al 14 de diciembre de 2012. UNMdP. O.C.A. N°: 1370/12. Otorga: 3 UVAC.

-Ecotoxicología acuática e investigación del impacto ecológico. Docente responsable: Stephan Pflugmacher. Cursado del 18 al 22 de marzo de 2013. UNMdP. O.C.A. N°: OCA 1551/12. Otorga 2 UVAC.

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

-Auxiliar adscripto a la docencia durante el segundo cuatrimestre del año académico 2012, en la materia Química Orgánica (B09). O.C.A. n°: 1397. UNMdP.

-Auxiliar adscripto a la docencia durante el segundo cuatrimestre del año académico 2013, en la materia Química Orgánica (B09). O.C.A. n°: 2003. UNMdP.

13. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES (Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período)

14. TITULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA

 (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

Efectos de aditivos dietarios y la salinidad sobre las defensas antioxidantes y el nivel de estrés oxidativo en *Artemesia longinaris* y *Pleoticus muelleri*, expuestos a compuestos nitrogenados inorgánicos

Condiciones de Presentación

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Becario, la que deberá incluir:
- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
 - b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
 - c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

Nota: El Becario que desee ser considerado a los fines de una prórroga, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.

.....
Firma del Director

.....
Firma del Becario