

# CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

## Informe Científico<sup>1</sup>

PERIODO <sup>2</sup>: 2014

### 1. DATOS PERSONALES

*APELLIDO: Díaz*

*NOMBRES: Ana Cristina*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

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

*Dirección electrónica (donde desea recibir información): [acdiaz@mdp.edu.ar](mailto:acdiaz@mdp.edu.ar)*

### 2. TEMA DE INVESTIGACION

*Biología aplicada a la acuicultura*

### 3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

*INGRESO: Categoría: Investigador Adjunto Fecha: 01/08/2006*

*ACTUAL: Categoría: Investigador Adjunto desde fecha: 01/08/2006*

### 4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

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

*Facultad: Ciencias Exactas y Naturales*

*Departamento: Ciencias Marinas*

*Cátedra: Tópicos Selectos de Biología Marina*

*Otros:*

*Dirección: Calle: Funes N°: 3350*

*Localidad: Mar del Plata CP: 7600 Tel: 223-4751107*

*Cargo que ocupa: Profesor Adjunto dedicación simple*

### 5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

*Apellido y Nombres:*

*Dirección Particular: Calle: N°:*

*Localidad: CP: Tel:*

*Dirección electrónica:*

.....  
Firma del Director (si corresponde)

.....  
Firma del Investigador

<sup>1</sup> Art. 11; Inc. "e"; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

<sup>2</sup> El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2014 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2012 al 31-12-2013, para las presentaciones bianuales.

## **6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.**

*Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

El presente plan tiene como objetivo contribuir a mejorar la tecnología de cultivo de especies de crustáceos de interés comercial, poniendo énfasis en el estudio del control de la reproducción, la nutrición en las distintas etapas del crecimiento y el desarrollo de técnicas para el monitoreo de las condiciones de cultivo. Como objetivos particulares se destacan: 1) Desarrollar nuevas técnicas de manejo y alimentación y 2) Evaluar el efecto de aditivos inmunomoduladores en las dietas para el cultivo de los stocks de reproductores.

### **1.- Desarrollo de técnicas de manejo**

#### *a) Optimización de dietas de engorde:*

Se analizaron los cambios histológicos que ocurren en el hepatopáncreas, en ejemplares de *Artemesia longinaris* alimentados con una dieta control semipurificada (caseína 35,5%, 22% de almidón, gelatina 12,5%, celulosa 12 %, alginato de sodio 3,7%, concentrado proteico de calamar 3%, hexametáfosfato de sodio 1%, lecitina de soja 1%, vitaminas 2%, aceite refinado de pescado 7%, minerales 0,3%) y con cuatro tratamiento con la adición de 2% de esteroides (colesterol, ergosterol,  $\beta$ -sitosterol o estigmasterol). Los animales se mantuvieron durante seis semanas en acuarios con filtro biológico interno. Los hepatopáncreas de individuos en intermuda se fijaron con técnicas histológicas de rutina. Los individuos alimentados con las dietas suplementadas con colesterol y estigmasterol presentaron el mejor crecimiento y la histología del hepatopáncreas mostró características semejantes a organismos salvajes. La histoarquitectura del hepatopáncreas de los animales alimentados con las dietas adicionadas con ergosterol y  $\beta$ -sitosterol y con la dieta control (sin el agregado de esteroides) reveló distintas alteraciones histológicas, tales como pérdida de altura celular y de la forma estrellada característica del lumen, retracción de la membrana basal y ausencia del borde en cepillo. Se observó separación entre túbulos en los camarones alimentados con la dieta con ergosterol, mayor vacuolización que provoca un aspecto "espumoso". Los individuos alimentados con dieta libre de esteroides mostraron hipertrofia, desorganización celular y amplia luz tubular; también ciertas áreas presentaron encapsulación hemocítica con severos focos de necrosis. Los resultados sugieren que la adición de colesterol y/o estigmasterol a la dieta promueve el crecimiento. El agregado de otros esteroides afecta la estructura histológica del hepatopáncreas y a largo plazo su función, provocando una reducción de la actividad metabólica de dicho órgano.

#### *b) Efecto de variaciones ambientales:*

Los parámetros ambientales tales como temperatura, salinidad, oxígeno, contenido de amonio y pH mostraron efecto significativo sobre el sistema inmune de los crustáceos. La salinidad es uno de los factores más importantes que afectan la fisiología de los animales acuáticos. Se evaluó la respuesta histológica del hepatopáncreas de *Artemesia longinaris* a los cambios de salinidad. Los animales se expusieron a cambios graduales y abruptos de salinidad desde 33 a 29; 25 y 16ups por distintos intervalos de tiempo y luego se readaptaron a 33ups durante 30 días. Los individuos mantenidos 10 días a 16ups mostraron la menor supervivencia y presentaron histopatologías que en los ejemplares readaptados a 33ups no se observaron. Los camarones que sufrieron cambios abruptos de 33 a 16ups murieron en 3-5 horas, pero no presentaron alteraciones en el hepatopáncreas debido probablemente a la breve exposición. Sólo los que se transfirieron abruptamente de 33 a 25ups presentaron histopatologías a las 96 horas de exposición. En todos los casos cuando los animales se readaptaron a 33ups durante 30 días, los hepatopáncreas recuperaron su estructura típica. La capacidad del hepatopáncreas para modificar y regenerar su epitelio en respuesta a los cambios osmóticos es típica de un órgano de gran plasticidad, que puede ser usado como monitor para detectar condiciones adversas o estresantes del ambiente.

**c) Exposición al nitrito**

Otro objetivo fue evaluar el daño tisular en las branquias y el hepatopáncreas de *Pleoticus muelleri* producido por la exposición al nitrito. Se utilizaron animales mantenidos durante 96hs a concentraciones crecientes de nitrito (0; 100; 200; 300; 400; 500; 750 y 1000mg/l). El cefalotórax de cada individuo se fijó en medio Davison, posteriormente se deshidrataron y se incluyeron en parafina. Los cortes de 5µm se colorearon con hematoxilina-eosina. En el hepatopáncreas se observaron alteraciones tisulares a partir de la concentración de 200mg/l de nitrito, consistentes en incremento en el número de células B y zonas con hiperplasia. El incremento de nitrito ambiental provocó la distorsión de la estructura tubular; en cuanto a la citología, las células comenzaron a perder su identidad, con alto grado de retracción. A 500mg/l, las células presentan una abundante vacuolización (células *foamy*) y sólo las células F pueden ser identificadas; a 1000mg/l las células perdieron su identidad celular. En las branquias, el tratamiento con nitrito provocó desorganización epitelial y plegamiento de la cutícula, ambos efectos se acentúan con el incremento de este poluyente. Además de estas histopatologías, la exposición a 400mg/l produjo distorsión de los canales marginales. Concentraciones superiores de nitrito ambiental causaron la aparición de lagunas subcuticulares y colapso de la laminilla. A 1000mg/l se detectó interrupción de la cutícula con el consiguiente deterioro de la laminilla branquial. En conclusión, el análisis de histológico del hepatopáncreas y las branquias de *P. muelleri* puede ser utilizado como un biomarcador de polución por nitrito.

**d) Efectos aditivos e interactivos (no-aditivos) de la radiación ultravioleta (RUV) sobre el crecimiento y desarrollo de larvas de crustáceos.**

La radiación solar ultravioleta (UVR 280-400 nm) puede producir efectos nocivos en los organismos acuáticos y ecosistemas. El período larvario de organismos marinos representa una etapa clave en su ciclo de vida, donde la reducción en el crecimiento y la supervivencia podrían traducirse en una potencial disminución de las poblaciones de adultos. El objetivo fue determinar el efecto directo e indirecto (a través de la dieta), de la radiación ultravioleta (RUV) sobre la supervivencia, el desarrollo y el crecimiento en larvas y postlarvas de *Pleoticus muelleri*. Adicionalmente se determinó la acumulación de compuestos que absorben RUV, por ejemplo las micosporinas (MAAs), como potenciales protectores ante el estrés producido por RUV. Se trabajó con estadios naupliares (N III) de *Artemia persimilis*, alimento fundamental en la cría de langostinos y camarones. Los N III fueron alimentados con algas comúnmente usadas en acuicultura y que contienen compuestos que absorben RUV. Las algas fueron expuestas previamente a dos tratamientos de radiación durante 20 días: a) M-UVR: recibieron el espectro total de radiación (UV 280-400nm + luz fotosintéticamente activa PAR 400-700nm), b) M-PAR: recibiendo sólo PAR. Al final de la experimentación se observó, por espectrofotometría, una acumulación MAAs en aquellas larvas alimentadas con algas irradiadas con UV, sin afectar la palatabilidad y supervivencia de las mismas. Luego de una exposición a estrés por RUV, las larvas sin MAAs presentaron anomalías en sus apéndices locomotores y mortalidades del 70%, mientras que larvas con presencia de MAAs obtuvieron 90% de supervivencia y ninguna anomalía en su fisiología. Se concluye que estadios larvales de *A. persimilis* pueden bioacumular compuestos que absorben RUV a través de la dieta y que le confieren efecto fotoprotector ante un estrés por RUV.

Posteriormente se trabajó con el efecto directo de RUV sobre larvas y postlarvas de *P. muelleri*, e indirecto a partir de la dieta. Larvas Mysis I (M I) fueron alimentadas con *A. persimilis* + alga *Pavlova* sp. Ambos, larvas M I y dieta fueron expuestos a los mismos tratamientos de radiación arriba mencionados. Se calcularon el índice de calidad larvario (Qi), la bioacumulación de MAAs y la actividad antioxidante se cuantificó con el radical DPPH, utilizando espectroscopia EPR. La presencia de MAAs se observó tanto en las algas como en las larvas. En todos los tratamientos se llegó al estadio de postlarva 8 (PL 8) con un Qi = 70%, excepto en el tratamiento con larvas irradiadas con UV y dieta no irradiada, cuya supervivencia fue nula. Los individuos que recibieron UV, directa e indirectamente por el alimento, presentaron el mayor crecimiento, con un 50% de incremento en tamaño de M I

a PL 8. Se observó una relación directa entre la concentración de MAAs y la mayor actividad antioxidante, los estadios postlarvales con mayor concentración de MAAs presentaron un drástico decaimiento del radical estable 2,2 difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) dentro de los 5 min y a los 60 minutos hay un remanente del 20%, que indicaría que los MAAs proveen un efectivo beneficio sobre la fotofisiología de estos crustáceos.

## **2.-Efecto de aditivos inmunomoduladores en la dieta**

El objetivo fue determinar si la suplementación de carotenoides en la dieta del camarrón *Artemesia longinaris* afecta la capacidad bioacumuladora de carotenoides en diferentes órganos, la actividad antioxidante total, el crecimiento y la maduración gonadal. Se mantuvieron hembras inmaduras en tanques de 3m de diámetro con aireación (33ups salinidad, 18°C, pH 7, 12:12hs fotoperiodo). Se realizó ablación unilateral del pedúnculo ocular. Se alimentó con una dieta artificial pelletizada suplementado con  $\beta$ -caroteno o astaxantina (33mg caroteno/kg de dieta). Como tratamiento control se utilizó la misma dieta sin suplementar. Después de 60 días se extrajeron los ovarios, hepatopáncreas y tegumento. Se realizó la determinación de carotenos polares (astaxantina) y no polares ( $\beta$ -caroteno) mediante la técnica de espectroscopía UV-visible. Por espectroscopía de resonancia magnética se analizó la actividad antioxidante en el hepatopáncreas. En todos los tratamientos el 100% de las hembras maduraron sus ovarios. El agregado de carotenoides tuvo efectos activadores en la ganancia de peso en ambos tratamientos respecto del control. Tanto el tegumento como el ovario presentaron mayor bioacumulación de  $\beta$ -caroteno que de astaxantina libre. No se detectó la presencia de carotenos en el hepatopáncreas. Ya sea con o sin adición de carotenos el hepatopáncreas presentó una capacidad de protección antioxidante evidenciada por la capacidad de reaccionar con el radical DPPH. La presencia de altas concentraciones de carotenos encontradas en el ovario de las hembras maduras sugiere que los carotenos dietarios funcionan, no sólo como una fuente de pigmentos, sino también como precursores de moléculas intermediarias altamente bioactivas.

## **7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.**

**7.1 PUBLICACIONES.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.1.1. MASSON, I.; DIAZ, A.C. & PETRIELLA, A.M. 2012. Effect of salinity changes on the midgut gland of *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae). Latin American Journal of Aquatic Research, 40(2): 358-366.

We evaluated the response of the midgut gland of *Artemesia longinaris* to salinity changes by analyzing its histological modifications. Animals were exposed gradually and suddenly to 33, 29, 25 and 16 psu for different times and readapted to 33 psu for 30 days. Individuals maintained 10 days at 16 psu showed the lowest survival and presented histopathologies which were not present in those readapted to 33 psu. Shrimps suddenly transferred from 33 to 16 psu died in 3-5 h but did not show midgut gland alterations due to the brief exposure. Only shrimps suddenly transferred from 33 to 25 psu presented histopathologies after 96 h. When readapted to 33 psu for 30 days, the midgut gland recovered an unaltered structure.

Except E-cells which did not vary in height among treatments, F, R and B-cells were higher in animals gradually adapted to 29 than to 16 psu. Sudden salinity changes had a significant effect in the mean height of F, R and B-cells of those animals transferred from 33 to 25 psu (from 24 to 96 h after transfer F and R-cells heights decreased, and from 96 to 144 h after transfer B-cells height increased). Our study shows the effect of osmotic stress at the tissular level on the midgut gland and, at least partially, it explains the reason for the mortalities at low salinities. The histological analysis of the midgut gland could be useful to monitor the health state of cultured shrimps and aid in its production.

Se plantearon las hipótesis de trabajo, se colaboró en la parte experimental, en el análisis histológico, el análisis de los resultados y la redacción del manuscrito.

7.1.2. DIAZ, 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.

The purpose of this study was to measure the concentration of carotenoids and properties which occur in tissues to neutralize free radicals during ontogeny of *Pleoticus muelleri*. The stages of nauplius, protozoa, mysis and postlarvae of 1, 6, 10, 26, 30 days were examined from hatchery raised postlarvae from wild females. The  $\beta$ -carotene and the astaxanthin from the lyophilized tissue were quantified using a ultraviolet-visible spectrophotometer. Free radicals scavenging properties of tissues extracts were evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR). The reaction of protective substances was followed with the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. The concentration of carotenoids of the whole larvae and postlarvae ranged from 1.72 to 87.04 mg g<sup>-1</sup> for  $\beta$ -carotene, and 2.26 to 19.86 mg g<sup>-1</sup> for astaxanthin. All the larval and postlarvae stages showed a protective capacity. In the stages of mysis, postlarvae 1 and 30 the homogenates were monitored without DPPH. The undefined EPR signal was quantified and considered as a "pool" of persistent radicals, with a concentration about 10<sup>5</sup> M. A relationship was observed between the concentration of carotenoids and the protective capacity of the homogenate. The postlarvae stages had a high concentration of carotenoids and the greatest protective capacity.

Se plantearon las hipótesis de trabajo. Se colaboró en la parte experimental, especialmente en el mantenimiento de los animales y en los análisis bioquímicos. Además se realizaron los análisis estadísticos de los datos y se colaboró en la redacción del manuscrito.

7.1.3. HARAN, N.S.; DIAZ, A.C. & FENUCCI, J.L. 2013. Comparison of dietary sterols on growth, survival and midgut gland histology of prawn *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae). *The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgah*, 65(1): 1-7.

Two trials were conducted to evaluate the growth, survival, and midgut gland histology of Argentine prawn, *Artemesia longinaris*, nourished with diets containing different sterols. Juveniles of 0.97-1.01 or 1.75 g were fed one of four semi-purified diets containing 2% cholesterol, ergosterol, stigmasterol, or  $\beta$ -sitosterol, or a control diet containing no sterols for six weeks. The digestive glands of intermolt prawns were dissected out and processed for light microscope study. Diets containing cholesterol or stigmasterol resulted in higher growth than the other diets. Individuals fed these diets had midgut gland tissues similar to those of wild animals. The histoarchitecture of the midgut glands of *A. longinaris* fed ergosterol,  $\beta$ -sitosterol, or the control diet resulted in alterations such as the dismissing of cellular height, loss of the star-shaped lumen of the tubules, retraction of basal membranes and absence of the brush border, hemocytic infiltration, cells with foamy appearance, cellular necrosis and hypertrophy, and tissue disorganization. Results suggest that adding cholesterol or stigmasterol to feeds for this species promotes weight



increase and a hepatopancreas with a histological structure typical to that of wild prawns.

Se plantearon las hipótesis de trabajo, se colaboró en el análisis histológico, el análisis de los resultados y la redacción del manuscrito.

7.1.4. ESPINO, M.L.; VELURTAS, S.M. & DIAZ, A.C. 2013. Effects of nitrite on antioxidant defenses of shrimp *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Solenoceridae). *Biocell*, 37(2): A86 (Abstract).

The shrimp *Pleoticus muelleri* is a commercially important species in Argentina and presents a great potential to aquaculture activity. Therefore, studies on the effects of the nitrogenous compounds present in the water are necessary, since it can affect the overall physiology and lead to increased mortality of organisms. An imbalance in the generation of free radicals is considered a physiological stress factor, so the measurement of total antioxidant capacity (AT) can be used to estimate the antioxidant defenses effects in these animals. The objectives of this study were to determine the median lethal concentration (LC50) to nitrite and to characterize their effects on total antioxidant defenses in the shrimp. Short-term LC50 toxicity tests were carried out at ten concentrations from 0 to 1500mg/l of nitrite. Free radical scavenging properties of hepatopancreas extracts of *P. muelleri* were evaluated by electron paramagnetic spin resonance spectrometry methods against the stable 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. The LC50 determined at 96hs was of 170,56mg/l. AT capacity was measured in individuals exposed to 100, 200, 400 and 500mg/l of nitrite. All treatments tested showed radical scavenging ability, but the percentage of decay with time was greater in shrimp exposed to concentrations of nitrite close to the LC50, showing higher antioxidant activity. However, in all cases significant differences respect of control were determined. From the results it can be concluded that of measurement of AT can be proposed as a biomarker of pollution by nitrites.

Este trabajo es parte de la Tesis de Doctoral de la Lic. Espino, quien la realiza bajo la dirección de la suscripta. Se supervisó el desarrollo de la parte experimental. Se colaboró en la lectura crítica del manuscrito.

**7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN.** *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

7.2.1. ESPINO, M.L.; DIAZ, A.C. & VELURTAS, S.M. Effects of exposure to nitrite on the antioxidant enzymes activity and the histopathology response of prawn *Palaemonetes argentinus*. En prensa en: *Hidrobiologica*.

The main of the present study was to determine the lethal and sublethal effects of nitrite of *P. argentinus*. The 24, 48, 72 and 96-h media lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of nitrite in *Palaemonetes argentinus* (Nobili 1901) were found to be 103.07; 91.94; 82.39 and 62.53mg L<sup>-1</sup>, respectively. The sublethal effects of acute exposure to nitrite were investigated. The antioxidant activity of superoxide dismutase (SOD) is positively correlated with the concentration of nitrite in the environment, thus increasing the formation of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), substrate of catalase (CAT), which also showed increased its activity in the same experimental conditions. The

histological results show that the exposure nitrite causes hyperplasia, necrosis and changes in the lamellar epithelium; while in the hepatopancreas produce degenerative desquamation, epithelial deterioration and hyperplasia. In conclusion, nitrite toxicity increases with time of exposure. Histological analysis of gills and / or hepatopancreas is a useful tool to determinate the presence of nitrite in the water. However, measurement of the activity of antioxidant enzymes (SOD and CAT) as possible biomarkers of nitrite pollution should be evaluated in future studies.

Este trabajo es parte de la Tesis de Grado de la Lic. Espino, quien la realizó bajo la dirección de la suscripta. Se supervisó el desarrollo de la parte experimental. Se colaboró en la lectura crítica del manuscrito.

**7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.**

*Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

**7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.**

*Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

**7.5 COMUNICACIONES.** *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

**7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS.** *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

**8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.**

**8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS.** *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

**8.2 PATENTES O EQUIVALENTES.** *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

**8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRASNFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO.** *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

**8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES** *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

**8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.**

**9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS.** *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

**10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:**

**10.1 DOCENCIA**

10.1 ALVAREZ, M.F.; BERTOLA, G.R.; BURRY, S.; COMPARATORE, V.; DIAZ, A.C.; LEMMI, C.; PAEZ, M.; PEDETTA, A.; SANTOS, B.; SEGARRA, C. & TRASSENS, M. 2013. Modulo de trabajo para el Taller de Ingreso "Leer y Pensar la Ciencia". Facultad de Cs. Exactas y Naturales, UNMDP, 120pp.

**10.2 DIVULGACIÓN**

**11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES.** *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

11.1. ESPINO, M.L. 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. Beca de Estudio. Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires. Del 01/04/2012, por el término de 2 años. Directora.

**12. DIRECCION DE TESIS.** *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

12.1. PISANI, E. 2013. Efecto de los carotenos dietarios en stocks reproductivos de camarones penaeoideos. Tesis de grado para optar al título de Lic. en Ciencias Biológicas. Directora. Calificación: Sobresaliente.

12.2. ROSENTHAL, A. "Importancia biológica de las reservas lipídicas en megalopas de cangrejos *Brachyura*". Tesis de postgrado para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas. Directora. OCA 949/12. Directora. En ejecución.

12.3. ESPINO, M.L. "Estudio fisiológico de las defensas antioxidantes en camarones penaeoideos". Tesis de postgrado para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas. Directora. OCA 1106/12. Directora. En ejecución.

**13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS.** *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

13.1. ESPINO, M.L.; VELURTAS, S.M. & DIAZ, A.C. Efectos del nitrito sobre las defensas antioxidantes del camarón *Palaemonetes argentinus* expuestos a diferentes condiciones osmóticas. XXIX Congreso Argentino de Química, Mar del Plata, Argentina, 3-5 de octubre de 2012.

13.2. MARCOVAL, M.A.; PAN, J.; DIAZ, A.C.; VELURTAS, S.M.; & FENUCCI, J.L. UV-radiation radiation effect on survival and growth, and quantification of free-radicals in protozoal stages of the Argentine red shrimp. CERF 2012 (Coastal and Estuarine Research Federation), Mar del Plata, Argentina, 11-14 de noviembre de 2012.

13.3. ESPINO, M.L.; VELURTAS, S.M.; DIAZ, A.C. & FENUCCI, J.L. Efectos del nitrito sobre las defensas antioxidantes del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Solenoceridae). XIV Congreso y XXXII Reunión Anual de la Sociedad de Biología de Rosario, Casilda, Argentina, 29-30 de noviembre de 2012.

13.4. MARCOVAL, M.A.; PAN, J.; DIAZ, 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. XV COLACMAR, Punta del Este, Uruguay, 27-31 de octubre de 2013.

13.5. PISANI, E.; DIAZ, A.C.; VELURTAS, S.M. & FENUCCI, J.L. 2013. Efecto de los carotenos dietarios en stocks reproductivos del Camaron *Artemesia longinaris*. XV jornadas anuales de la Sociedad Argentina de Biología, Chascomus, Argentina, 4-6 de diciembre 2013.



13.6. ESPINO, M.L.; DIAZ, A.C. & FENUCCI, J.L. 2013. Alteraciones histopatológicas del langostino *Pleoticus muelleri* por efecto del nitrito ambiental. XV jornadas anuales de la Sociedad Argentina de Biología, Chascomus, Argentina, 4-6 de diciembre 2013.

**14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

**15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

15.1. 2012/2014. Proyecto "Desarrollo de tecnologías para el cultivo de crustáceos" CONICET, PIP 2011 N° 0515/12.

**16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

**17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**

**18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

18.1. Consejero Suplente del Departamento de Ciencias Marinas de la Fac. de Cs. Exactas y Naturales de la UNMP como representante docente, desde el 04/05/11 por el término de dos años. OCA N° 383/11.

18.2. Integrante de la Comisión de Tesis de Grado de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNMP desde el 01/11/11 por el término de 2 años. OCA N° 802/11.

18.3. Consejera Académica representante del Claustro Docente de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UNMDP desde el 3 de mayo de 2012 por el término de 2 años. OCS N° 3097/12.

18.4. Integrante de la Red de Fortalecimiento para la Maricultura Costera Patagónica. CONICET. Participación en el 5° Taller de Trabajo de la Red y Taller de Cultivo de Mejillón, realizados en Las Grutas, Río Negro, del 21 al 23 de noviembre de 2012.

**19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

19.1. Jefe de Trabajos Prácticos. Dedicación simple. Cátedra de Fisiología de Crustáceos, Departamento de Ciencias Marinas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Concurso Ordinario ganado en agosto de 1992. Miembro de Carrera Docente (OCA N° 872/94). En licencia a partir de la designación como Profesora Adjunta (01/09/2013).

19.2. Profesora Adjunta. Dedicación Simple. Cátedra de Tópicos Selectos de Biología Marina, Dpto. de Ciencias Marinas, Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNMdP. Cargo desempeñado a partir del 01/09/2013.

19.3. Dictado del curso de postgrado: "Biología de Crustáceos. Un enfoque actual". Escuela de Postgrado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNMdP. Octubre de 2012. OCA N° 1202/12.

19.4. Dictado del curso de postgrado: "Ecofisiología de Crustáceos" Docente responsable. Dpto. Ciencias Marinas, Univ. Nac. de Mar del Plata. Diciembre de 2013. OCA N° 1878/13

19.5. Coordinadora del Taller de Lectoescritura "Leer y pensar la ciencia" correspondiente al Ingreso 2011 y 2012 a la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. OCS N° 1881/12.

La actividad docente me demanda el 20% (10 horas semanales).

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

**21. TÍTULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PRÓXIMO PERÍODO.** *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

Biotechnología aplicada a la acuicultura.

a) Evaluar el efecto de aditivos inmunomoduladores en las dietas; b) Estudiar la digestibilidad de harinas de origen animal y vegetal, en especial provenientes de macroalgas sobre el crecimiento y su efecto antioxidante y c) Desarrollar nuevas técnicas de manejo y alimentación de postlarvas.

Para evaluar el estado nutricional de los animales en experimentación se utilizarán distintos parámetros: supervivencia, crecimiento, metabolitos, número de hemocitos (Carrillo *et al.*, 2006), actividad de fenoloxidasa (Hernández López, 1995) y peroxidasa (Lamela *et al.*, 2003) en hemolinfa, actividad de las enzimas antioxidantes, tales como superóxido dismutasa (Marklund y Marklund, 1974) y catalasa (Aebi, 1984)) y análisis de la morfología funcional del hepatopáncreas por técnicas histológicas (Bell y Lightner, 1988). La actividad antioxidante de los tejidos se determinará a través de la medición de la actividad de radicales libres por espectroscopia de resonancia magnética (Díaz *et al.*, 2004). Las mediciones se realizarán en presencia de aire y en atmósfera de nitrógeno utilizando un espectrómetro Bruker Eleksys E500T, banda X, con una cavidad de resonancia rectangular, con un equipo accesorio controlador de la temperatura. Se utilizarán testigos adecuados y se cuantificarán las mediciones (Yordanov, 1994). La significancia estadística de los resultados se analizará mediante los tests de homoscedasticidad, varianza y covarianza (ANOVA y ANCOVA),  $\chi^2$ , Duncan (Sokal y Rohlf, 1995).

a) Aditivos inmunomoduladores:

i) *Carotenos.*

Se diseñó una dieta artificial pelletizada preparada en el laboratorio, la que combinada con la ablación provoca un efecto sinérgico que favorece la maduración gonadal en cautiverio (Díaz y Fenucci, 2004). Se intentará mejorar los resultados obtenidos con dietas artificiales suplementadas con  $\beta$ -caroteno y astaxantina. Se trabajará con machos y hembras obtenidos mediante pesca con una lancha costera en la zona de Mar del Plata. Los mismos se mantendrán de acuerdo al sistema monosexo (*P. muelleri*) a una densidad de 10/m<sup>2</sup> en tanques circulares de 3m de diámetro, equipados con sistema de aireación. Una vez impregnadas, las hembras se llevarán a los tanques de desove, de 75 l de capacidad. Se determinarán la tasa de maduración, índice de impregnación, desove y eclosión. Se continuará con los estudios sobre la acción de carotenos en las dietas de juveniles. Se realizarán experimentos de crecimiento a fin de evaluar la acción de estos compuestos sobre el normal desarrollo de esta especie. Por otra parte se tratará de determinar la capacidad de captura de radicales libres por parte del hepatopáncreas de los organismos sometidos a estos tratamientos. Ello permitirá establecer la capacidad de mantener la homeostasis de los organismos en distintas condiciones de estrés. La determinación de carotenos totales se realizará homogeneizando el tejido liofilizado en la oscuridad bajo atmósfera de nitrógeno, extrayendo los pigmentos con acetona y tolueno (Schiedt *et al.*, 1993). Se medirá la absorbancia con un espectrofotómetro UV-visible a 468-

474 y 476-484 nm. Se utilizarán las curvas estándar de astaxantina,  $\beta$ -caroteno, cantaxantina y luteína en hexano con los coeficientes de extinción específicos para cada carotenoide (Britton *et al.*, 1995).

ii) *Prebióticos.*

El uso de extracto de algas pardas, que contienen compuestos fenólicos, puede ser beneficioso debido a su actividad antioxidante. Para evaluar el efecto de las dietas adicionadas con prebióticos, se realizarán experimentos de 50 días de duración en acuarios de 150 litros, con aireación continua, a una densidad de 20 ind/m<sup>2</sup> a 30‰ de salinidad y 20-22°C de temperatura. El extracto acuoso de algas se preparará a partir del homogeneizado de algas liofilizadas en agua desionizada (Hou y Chen, 2005). La incorporación del extracto a la dieta, se realizará según Fu *et al.* (2007) mediante el agregado de 0; 0,5; 1 y 2g del extracto por kg de dieta (45% de proteínas, 8% de lípidos, 7% agua y 7% cenizas) (Díaz y Fenucci, 2002). Posteriormente, los individuos de cada tratamiento se someterán a un ensayo estático de toxicidad aguda, con concentraciones de nitrito, que se determinarán en base a los resultados obtenidos en tests de toxicidad aguda. Todos los tratamientos se realizarán por triplicado.

iii) *Compuestos nitrogenados.*

Los compuestos nitrogenados son los tóxicos más comunes en los sistemas de cultivo intensivo y semi-intensivo, pueden acumularse en el agua como resultado de un desbalance de la actividad de las bacterias nitrificantes. En los crustáceos, altos niveles de nitritos afectan la salud y la supervivencia; en condiciones fisiológicas normales existe un balance entre la generación de radicales libres y la protección antioxidante; sin embargo, cuando aumenta el estrés oxidativo se produce daño tisular. Para determinar la toxicidad de compuestos nitrogenados se utilizarán postlarvas y/o juveniles de camarones y langostinos. Los animales se aclimatarán en condiciones hiposalinas (20; 25 y 30 de salinidad), luego se realizará un test de toxicidad aguda exponiendo a los individuos a diferentes concentraciones de nitrito durante 96 horas. Como control se analizarán individuos mantenidos con los mismos parámetros ambientales en agua libre de compuestos nitrogenados. A partir de los resultados del test se determinará el CL<sub>50</sub> con el método Probit (Finney, 1971).

b) *Digestibilidad de harinas de origen animal y vegetal:*

En una granja de engorde el 50% del costo de producción se debe a la alimentación, la mayoría de los alimentos que se utilizan en la actualidad se basan en harina de pescado ingrediente este de alto costo y calidad muy variable de acuerdo con su origen. En nuestro laboratorio se ha diseñado una dieta estándar, con un 48% de harina de pescado, es por ello que se tratará de reemplazar este componente por otras harinas, como harina de carne, soja, algas (*Macrocystis*, *Undaria*, etc). Para probar las distintas dietas diseñadas se realizarán experimentos de 40 días de duración. Los mismos se llevarán a cabo en acuarios con agua de mar filtrada. Los animales se colocarán a una densidad de 30/m<sup>2</sup> (camarones) y 20/m<sup>2</sup> (langostinos). Se llevará un registro diario de mudas, muertos y alimento consumido. Se evaluará el crecimiento a través del peso medio final, la supervivencia y el factor de conversión de las dietas. Todos los tratamientos se realizarán por triplicado. Por otra parte, se evaluará el método de determinación de digestibilidad aparente, utilizando como marcador el óxido de cromo, en dos concentraciones diferentes. El óxido de cromo se utilizará como un componente de referencia puesto que es fisiológicamente inerte y no tóxico, ha sido utilizado para medir digestibilidad aparente de distintos componentes de las dietas, y tiene la ventaja de que no es necesario medir la cantidad total de ingestión y defecación (Fenucci 1981).

c) *Efectos aditivos e interactivos de la radiación ultravioleta (RUV):*

Se estudiará el efecto de variaciones de temperatura y radiación ultravioleta sobre estadios larvales, postlarvales y juveniles de *P. muelleri* y *A. longinaris*. En los experimentos se testearán temperatura y RUV actuales comparándolos con temperaturas elevadas en 6°C y una reducción de la capa de ozono de un 20%, simulando una condición de cambio extremo para futuros escenarios de cambio climático (IPCC 2007) observando el efecto en

la supervivencia, número de mudas, crecimiento y desarrollo. Los tratamientos de alimentación serán: para larvas: a) microalgas con compuestos protectores a la RUV (*Pavlova* sp., *Phaeodactylum* sp., *Dunaliella* sp.), b) microalgas sin compuestos protectores a RUV; para juveniles se usarán dietas base con agregado de dichas algas. Los tratamientos de radiación serán: a) radiación PAR (radiación visible, 400-700nm), b) radiación, PAR+RUV adicional. Los tratamientos de temperatura se combinarán con los anteriores y variarán entre 20 y 24°C. Para la experimentación se utilizarán tanques de PVC de 10 a 20 litros de capacidad, aireados desde el fondo dependiendo el estadio de desarrollo. Los individuos se dispondrán de 4-25 por tanque y se expondrán durante 5-7 días a los distintos tratamientos (por triplicado). Se trabajará a una salinidad de 33 durante todo el experimento. Al finalizar los experimentos se determinará índice de calidad larvaria (Qi), la actividad antioxidante total, estadio de desarrollo y crecimiento, número de mudas, presencia/ausencia de compuestos protectores de RUV bioacumulados a través de la dieta, malformaciones y motilidad. Diariamente se determinará la calidad de agua (concentración de oxígeno disuelto, temperatura, pH y salinidad, (medidos *in situ* con una sonda multisensor Horiba U-10) y la dosis de radiación recibida se medirá mediante un radiómetro manual de superficie.

#### Referencias:

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. In: Parker, L. (Ed.). *Methods in Enzymology*, vol. 105. Academic Press Inc., San Diego, pp. 121-126.
- Bell, T.A. & Lightner, D.V. 1988. *A handbook of normal penaeid shrimp histology*. World Aquaculture Society, Baton Rouge. 114pp.
- Britton, G.; Liaaen-Jensen, S. & Pfander, H. 1995. Carotenoids. Vol. 1B, Birkhäuser Verlag, Berlin: 47.
- Carrillo, O.; Zaldivar, C. & Rosas, C. 2006. Marcadores de situación nutricional y de salud. En: Estado actual y perspectivas de la nutrición de los camarones peneidos. Eds.: C. Rosas, R. Wilson & E. Andreatta. ISBN 970-3240-53-4, Publidisa Mexicana S.A., Nuevo Leon, México: 105-126.
- Díaz, A.C. & Fenucci, J.L. 2002. Comparative evaluation of different animal protein source in juveniles of *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Penaeoidea). En: *Modern Approaches to the Study of Crustacea*. E. Escobar Briones & F. Alvarez (eds.), Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Díaz, A.C. & J.L. Fenucci. 2004. Effect of artificial nutrition on the induction of precocious maturation in *Pleoticus muelleri* Bate (Crustacea, Penaeoidea). *Aquaculture Research*, 35: 1166-1171.
- Díaz, A.C.; Fernández Gimenez, A.V.; Mendiara, S.N. & Fenucci, J.L. 2004. Antioxidant activity in hepatopancreas of the shrimp (*Pleoticus muelleri*) by electron paramagnetic spin resonance spectrometry. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 52(10): 3189-3193.
- Fenucci, J.L. 1981. *Studies on the nutrition of marine shrimp of genus Penaeus*. Tesis doctoral, University of Houston, Texas, USA, 124pp.
- Finney, D. J., 1971: *Probit Analysis*. Cambridge Univ. Press; 333 pp.
- 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.
- Hernández López, J. 1995. Activación del sistema fenoloxidasas de hemocitos de camarón café (*Penaeus californiensis*) y su efecto en la fagocitosis. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, 43pp.
- 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.
- IPCC. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press: New York, NY, USA, 2007; p. 996.
- Lamela, R.E.L.; Silveira Coffigny, R. & Martínez, M. 2003. Actividad peroxidasa en juveniles del camarón *Litopenaeus schmitti*. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura CIVA 2003.
- Marklund, S. & Marklund, O. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 47: 469-474.
- Schiedt, K.; Bischof, S. & Glinz, E. 1993. Metabolism of carotenoids and in vivo racemization of (3S, 3'S) astaxanthin in the crustacean *Penaeus*. *Methods Enzymol.* 214: 148-168.



- Sokal, R. & Rohlf, J. 1995. Biometry, the Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3<sup>rd</sup> edition. W.H. Freeman. NY. 887pp.
- Yordanov, N.D. 1994. Quantitative EPR spectrometry-“State of the art”. Appl. Magn. Reson., 6: 341.
- 

### **Condiciones de la 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 Investigador, la que deberá incluir:
- Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).
  - Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda “Informe Científico Período .....”.
  - Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: [infinvest@cic.gba.gob.ar](mailto:infinvest@cic.gba.gob.ar) (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
  - En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.
- C. Sistema SIBIPA:
- Se deberá peticionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

---

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