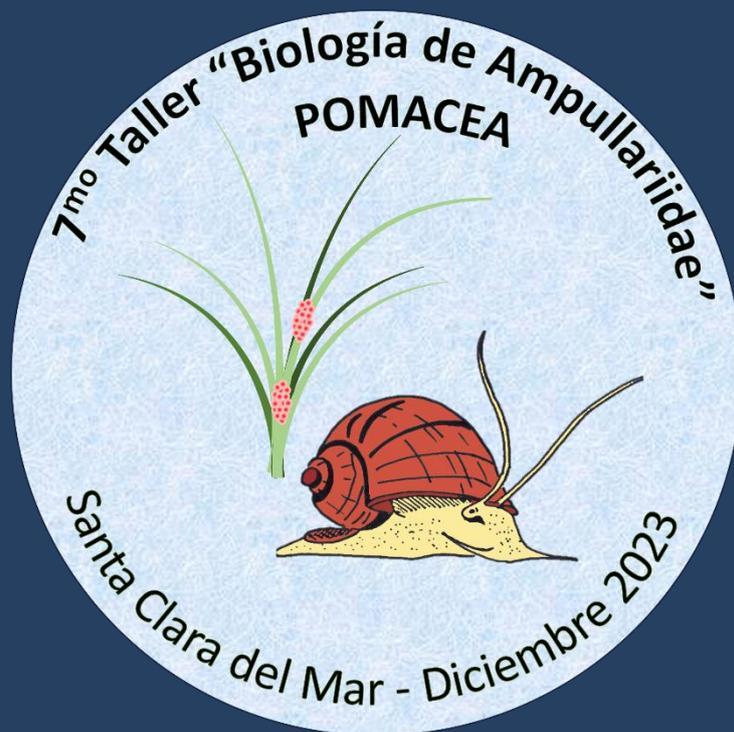


# LIBRO DE RESÚMENES

## 7<sup>mo</sup> Taller POMACEA “Biología de Ampullariidae”

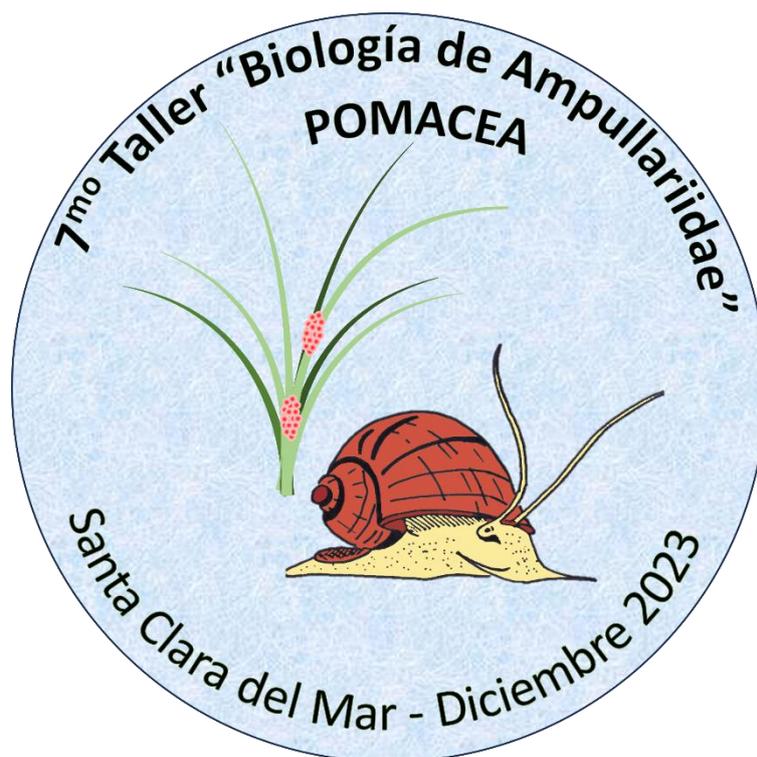


4-6 de diciembre de 2023

Santa Clara del Mar, Buenos Aires, Argentina

## LIBRO DE RESÚMENES

### 7<sup>mo</sup> TALLER BIOLOGÍA DE AMPULLARIIDAE 7 POMACEA



4 al 6 de diciembre de 2023

Santa Clara del Mar, Buenos Aires, Argentina



Asociación Argentina de Malacología

Libro de Resúmenes del 7mo Taller Biología de Ampullariidae POMACEA / compilación de María Yanina Pasquevich ; editado por María Yanina Pasquevich ; Alejandra Daniela Campoy-Díaz. - 1a ed. - Puerto Madryn : Asociación Argentina de Malacología, 2023.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-987-47791-4-4

1. Moluscos. 2. Bioquímica. 3. Reproducción Animal. I. Pasquevich, María Yanina, comp. II. Campoy-Díaz, Alejandra Daniela, ed. III. Título.  
CDD 594.1

ISBN 978-987-47791-4-4



**Organiza:**

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata, “Profesor Doctor Rodolfo R. Brenner” (INIBIOLP).

**Auspician:**

Facultad de Ciencias Naturales y Museo (FCNyM) y  
Facultad de Ciencias Médicas (FCM) de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

**Financia:**

Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación.

**Organizadores:**

Dr. Horacio Heras  
Dr. Marcos S. Dreon  
Dra. María Y. Pasquevich  
Lic. Ignacio Chiumento  
Lic. Ignacio Pavía  
Lic. Kevin B. Soldati

**Logo 7 POMACEA**

El logo de esta edición fue realizado por los Lic. Kevin B. Soldati e Ignacio Pavía, utilizando la ilustración de Riccardo Scalera.



## PRÓLOGO

Los moluscos gasterópodos de agua dulce de la familia Ampullariidae son de distribución circumtropical y muy conocidos porque incluyen especies de caracoles vectores de parasitosis que afectan a los humanos y son serias plagas del agro. Algunas de las especies nativas de América fueron introducidas en distintas regiones del mundo, donde se han dispersado y convertido en invasores de importancia sanitaria, ecológica y económica al punto que una de estas especies de caracoles manzana, *Pomacea canaliculata*, se lista entre las 100 especies invasoras más dañinas del mundo que provoca serias pérdidas de la biodiversidad de humedales y se encuentra entre las 10 especies invasoras más costosas en cuanto a pérdidas de cultivos y costos de erradicación. Comprender mejor la biología de los ampuláridos es así de suma importancia.

Los Talleres “Biología de Ampullariidae” se realizan desde 1999 y nuclean científicos de reconocidas instituciones de investigación, pertenecientes a Universidades Nacionales y el CONICET y eventualmente de otros países. La finalidad de estos talleres es promover el intercambio científico-tecnológico entre grupos de investigación que utilizan como modelo de estudio a moluscos ampuláridos nativos de nuestro territorio. En el 4to Taller se gestó, en el año 2010, la **Primer Organización Malacológica Argentina Centrada en el Estudio de los Ampuláridos (POMACEA)**, un grupo de investigadores, becarios y becarias, que comparten, difunden, debaten y discuten los avances recientes en la temática, conformándose este Taller como su punto de encuentro favoreciendo colaboraciones y proyectos conjuntos.

La 7ma edición del Taller POMACEA “Biología de Ampullariidae” (7POMACEA) se lleva a cabo del 4 al 6 de diciembre de 2023 en Santa Clara del Mar, Provincia de Buenos Aires y es organizada por el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP). En esta edición se incluyen ponencias que abarcan desde la bioquímica, biología estructural, biología molecular y celular, hasta estudios fisiológicos, ecológicos, ecotoxicológicos y de biología de la conservación. Entre sus participantes se encuentran investigadores, becarios y becarias, y estudiantes, de instituciones como CONICET, la Universidad Nacional de Cuyo (UNCUYO), la Universidad Nacional del Sur (UNS) y la Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

María Yanina Pasquevich y Horacio Heras



## ÍNDICE

PRÓLOGO.....	5
CONSERVACIÓN DE AMPULÁRIDOS SUDAMERICANOS VULNERABLES .....	7
DEFENSA DE LOS HUEVOS DE CARACOLES DEL GÉNERO <i>Pomacea</i> FRENTE A LA DEPREDACIÓN POR INSECTOS PLAGA DEL AGRO .....	8
PATOGÉNESIS DE UNA MICOBACTERIOSIS EXPERIMENTAL EN <i>Pomacea canaliculata</i> .....	9
AVANCES PARA COMPRENDER EL HOLOGENOMA DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA DE <i>Pomacea canaliculata</i> .....	10
ANÁLISIS INTEGRADO DE ENZIMAS DIGESTIVAS EN EL TRACTO DIGESTIVO DEL INVASOR CARACOL MANZANA, <i>Pomacea canaliculata</i> .....	11
NADIE ES PROFETA EN SU TIERRA: EXPANSIÓN DEL NICHOS CLIMÁTICO DE <i>Pomacea</i> <i>canaliculata</i> EN ÁREAS INVADIDAS Y SU FUTURA PROPAGACIÓN GLOBAL .....	12
LA ESTRUCTURA DE LA HEMOCIANINA DE <i>Pomacea canaliculata</i> PROPORCIONA INFORMACIÓN SOBRE SU POSIBLE PAPEL EN EL SISTEMA INMUNE INNATO.....	13
LOS HUEVOS DE LOS CARACOLES MANZANAS SON LA CAJA DE PANDORA: ¿UNA NUEVA HEMOPROTEÍNA EN EL REINO ANIMAL? .....	14
CARACTERIZACIÓN DEL METABOLISMO REDOX DE AMPULARIAS COLECTADAS DURANTE INVIERNO Y VERANO, EN UN CUERPO DE AGUA DE MENDOZA, ARGENTINA. ....	15
LA PARADOJA DEL BUEN VEGETARIANO: ¿PUEDE UN CARACOL PLAGA E INVASOR SALVAR A LAS PLANTAS NATIVAS? .....	16
EVOLUCIÓN DE DEFENSAS CLADO-ESPECÍFICAS EN LOS HUEVOS DE AMPULÁRIDOS... ..	17
ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE HEMOCIANINA EN <i>Pomacea canaliculata</i> .....	18
PAPEL DE LA HEMOCIANINA DE <i>Pomacea canaliculata</i> EN EL SISTEMA INMUNE INNATO Y SU POTENCIAL BIOMÉDICO .....	19
AMPULÁRIDO EN APUROS: ESTADO ACTUAL, AMENAZAS Y ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN DE UN ENDEMISMO DE LOS RÍOS IGUAZÚ Y ALTO PARANÁ .....	20
ORIGEN DE LAS DEFENSAS POR PERIVITELINAS EN <i>Pomacea</i> .....	21
DOS HERMANAS QUE NO SE VEÍAN AQUÍ DESDE EL CRETÁCICO (VIVIPARIDAE Y AMPULLARIIDAE).....	22
TOLERANCIA DIFERENCIAL AL ESTRÉS AMBIENTAL EN NEONATOS DE CARACOLES DULCEACUÍCOLAS INVASORES Y NO INVASORES: ¿DOS CARAS DE LA MISMA MONEDA? .....	23
EL GEN ITS2 Y SU PRODUCTO COMO HERRAMIENTA TAXONÓMICA Y FILOGENÉTICA EN NUESTROS AMPULÁRIDOS .....	24



## CONSERVACIÓN DE AMPULÁRIDOS SUDAMERICANOS VULNERABLES

S. Burela<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>INBIOSUR (CONICET-UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [silvana.burela@gmail.com](mailto:silvana.burela@gmail.com)

**Palabras clave:** *Ampullariidae*, *Distribución*, *Amenazas*, *Ciclo de Vida*, *Cría ex situ*.

Algunos caracoles de la familia Ampullariidae son mundialmente conocidos como plagas, en especial especies como *Pomacea maculata* Perry, 1810 y *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), muy estudiadas y reconocidas por sus impactos como especies invasoras. Sin embargo, para la gran mayoría de los caracoles de esta familia desconocemos rasgos básicos de su historial natural. En los ampuláridos, *Pomacea americanista* (Ihering, 1919) habitante de fondos duros del río Iguazú y el Alto Paraná, *Pomacea megastoma* (G. B. Sowerby I, 1825) y *Felipponea neritiformis* (Dall, 1919) presentes en fondos duros del río Uruguay, y *Marisa planogyra* Pilsbry, 1933 en el curso medio e inferior del río Paraná, sus distribuciones se encuentran en franca retracción respecto a las pasadas, basadas en registros históricos de museos; de acuerdo a un análisis basado en criterios establecidos por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), estas cuatro especies han sido categorizadas como En Peligro, información que será publicada en la primera edición del Libro Rojo de Moluscos de la Argentina. Estudios recientes sobre historia natural tanto de *P. americanista* como de *P. megastoma* indican que sus tasas de crecimiento, fecundidad y viabilidad son menores, y la maduración sexual más tardía, en comparación con *P. canaliculata*. Para las ampularias con estrategia de huevos gelatinosos y subacuáticos como *M. planogyra* y *F. neritiformis* si bien se están destinando esfuerzos para su cría en el laboratorio, aún no contamos con datos sobre sus ciclos de vida. Dadas las múltiples amenazas que sufren los ampuláridos, tales como construcción de represas, embalsamiento, alteración del régimen hidrológico, avance de especies invasoras como el mejillón dorado, intensificación del uso del suelo y contaminación de origen industrial, cloacal y agropecuario, conocer los ciclos de vida de estos caracoles representa una herramienta indispensable a la hora de establecer reservorios para su cría *ex situ*. En este Antropoceno atravesado por la sexta extinción masiva de especies, con una pérdida sin precedentes de la biodiversidad, sobre todo en humedales de agua dulce, estudiar las historias de vida para una adecuada evaluación y categorización de las especies es prioritario para garantizar su conservación.



## DEFENSA DE LOS HUEVOS DE CARACOLES DEL GÉNERO *Pomacea* FRENTE A LA DEPREDACIÓN POR INSECTOS PLAGA DEL AGRO

K.B. Soldati<sup>1,\*</sup>, J.R. Girotti<sup>1</sup>, S.M. Vargas<sup>2</sup>, M.S Dreon<sup>1</sup>, & H. Heras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata “Profesor Doctor Rodolfo R. Brenner” (INIBIOLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [ksoldati@med.unlp.edu.ar](mailto:ksoldati@med.unlp.edu.ar)

**Palabras clave:** *Tenebrio molitor*, Fluido perivitelino, Enterotóxico, *Canaliculata*, *Bridgesii*.

Los caracoles del género *Pomacea* se caracterizan por poner sus huevos por encima del agua, estando expuestos a condiciones adversas como altas temperaturas, desecación, radiación solar y depredadores terrestres. Estos caracoles se pueden agrupar en cuatro grandes clados, siendo los más derivados *Bridgesii* y *Canaliculata* y los que presentan mayor grado de invasividad (siendo *P. canaliculata* una de las 100 especies invasoras más dañinas a nivel mundial). Dentro del fluido perivitelino (FPV) de sus huevos hay proteínas involucradas, no sólo en la nutrición del embrión, sino también en su protección frente a distintos tipos de depredadores. El FPV de ambos clados tiene un efecto tóxico demostrado contra roedores, anfibios y aves, ejercido por lectinas enterotóxicas (*Bridgesii*) y una potente neuro/enterotoxina, denominada PV2 (*Canaliculata*). El objetivo de este trabajo es avanzar en el conocimiento sobre los efectos tóxicos de los FPVs de ambos clados y de la toxina PV2 del clado *Canaliculata*, contra insectos plaga del agro, utilizando como modelo larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Para esto, se inyectaron 5 µL de FPV de *P. canaliculata* (clado *Canaliculata*) y *P. scalaris* (clado *Bridgesii*) a grupos de diez larvas de *T. molitor*, a concentraciones de 5,27 µg/µl, y 0,90 µg/µl respectivamente. A las larvas del grupo control se les inyectaron cinco µL de una solución salina de PBS. Paralelamente, se determinó la toxicidad de la toxina PcPV2 inyectando cinco µL a grupos de diez larvas de en el rango de concentraciones 0,5-5,5 µg/µl. A su vez, se evaluó la toxicidad por vía oral del FPV de ambas especies, alimentando con pastillas de salvado fino embebidas en el FPV correspondiente (o PBS como control) a grupos de tres larvas por 24 y 48 h. Los resultados de toxicidad por inyección del FPV mostraron un 30% de mortalidad para *P. canaliculata*, y ausencia de toxicidad para el de *P. scalaris*. Del mismo modo, se determinó una DL50 de la PV2 de *P. canaliculata* = 56,49 µg/g para este insecto, una menor toxicidad que para roedores y aves. En los ensayos de toxicidad vía oral no se registró mortalidad, aunque el análisis de cortes histológicos del intestino medio de insectos teñidos con hematoxilina y eosina reveló diferencias morfológicas en la membrana peritrófica y el grosor del epitelio del intestino de las larvas alimentadas con FPV de ambas especies. En conjunto, nuestros resultados demuestran por primera vez la toxicidad de huevos de *Pomacea* sobre insectos.



## PATOGÉNESIS DE UNA MICOBACTERIOSIS EXPERIMENTAL EN *Pomacea canaliculata*

C. Cruz-Flores<sup>1,2,3,\*</sup>, C. Rodríguez<sup>1,2,3</sup>, C. Giai<sup>1</sup>, I. A. Vega<sup>1,2,3</sup> & A. Castro-Vazquez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\*E-mail: [cesarcruzflores@gmail.com](mailto:cesarcruzflores@gmail.com)

**Palabras clave:** Hemocitos, *Mycobacterium*, Nodulación, Lesiones Histopatológicas.

En estudios anteriores, nuestro grupo ha caracterizado las poblaciones de hemocitos circulantes de *Pomacea canaliculata*, así como su generación en los islotes renales. Asimismo, hemos estudiado las respuestas hemocitarias a algunos estímulos antigénicos, entre ellos la respuesta a la inoculación con *Mycobacterium marinum*, microorganismo filogenéticamente relacionado al agente causal de la tuberculosis, y hemos seguido la evolución de las lesiones durante las cuatro semanas posteriores a la inoculación. También hemos desarrollado un sistema *in vitro* en que se reproducen algunas características de la infección *in vivo*. En los estudios *in vivo* hemos encontrado agregaciones hemocitarias en el interior de los espacios y vasos hemocélicos del pulmón y el riñón que semejan a los tuberculomas del hombre. En el pulmón producen la obstrucción de la lámina respiratoria y la degradación e infiltración hemocitarias del tejido de acumulación de uratos. Aparentemente, los nódulos hemocitarios tienen un ciclo corto de formación y degradación, por lo que en el mismo animal se pueden ver nódulos de distintos tamaños, sin una clara dependencia de la dosis o del tiempo post- inoculación. El centro de los nódulos es heterogéneo y contiene hemocitos diferenciados maduros, junto a otros en proceso de muerte celular o de desdiferenciación, la que puede ser seguida de división celular. Comprobamos la presencia de bacilos acidorresistentes en las agregaciones de ambos órganos. La microscopía electrónica de los hemocitos en los islotes renales reveló fagosomas con bacterias de mediana electrodensidad, así como grupos de agregados esféricos electrodensos que interpretamos como restos de micobacterias en estado avanzado de degradación. A las cuatro semanas post-inoculación observamos congestión hemocitaria en los espacios que rodean los fondos de las criptas renales, junto con su desepitelización. Actualmente estamos estudiando la interacción de las micobacterias con los hemocitos *in vitro*, con distintas relaciones entre la concentración de ambos, y resultados preliminares han mostrado un tiempo óptimo para la observación de los nódulos (24 h de co-cultivo) y una relación óptima entre la concentración de hemocitos y la de micobacterias (dos micobacterias por hemocito). Esta nodulación *in vitro* podría ser la base para el desarrollo de métodos de testeo de drogas antituberculosas. Las diversas respuestas celulares de *P. canaliculata* a *M. marinum*, tanto *in vivo* como *in vitro*, así como la alta resistencia de esta ampularia al patógeno, la convierten en una especie adecuada para el estudio de infecciones micobacterianas y sus efectos sobre los procesos celulares y fisiológicos del huésped.



## AVANCES PARA COMPRENDER EL HOLOGENOMA DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA DE *Pomacea canaliculata*

F.A. Dellagnola<sup>1,2\*</sup>, A. Castro-Vazquez<sup>1,2</sup> & I.A. Vega<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

\*E-mail: [dellagnolaf@gmail.com](mailto:dellagnolaf@gmail.com)

**Palabras clave:** *Simbiosis, Microbioma, Metagenómica*

Nuestro grupo de investigación ha abordado la taxonomía, filogenia y rol funcional de un simbiote localizado en las células epiteliales de la glándula digestiva de la familia Ampullariidae, con énfasis en algunas especies Neotropicales. Si bien se han consolidado algunas hipótesis funcionales del rol de un simbiote procarionta pigmentado que ocupa una parte significativa de la glándula digestiva, avanzado en su caracterización molecular, su taxonomía y sistemática permanece aún sin elucidar. Entre las dificultades metodológicas destacan la presencia de inhibidores de PCR, ausencia de base de datos completas para una comparación molecular, y la presencia de otras bacterias cohabitantes del sistema digestivo. Así, el estudio del ‘hologenoma’ de la glándula digestiva, entendido éste como el genoma del huésped junto a otros genomas microbianos de diferentes dominios de la vida, emerge como una posibilidad taxonómica y funcional superadora. De esta forma, hemos impulsado dos enfoques paralelos: (1) la construcción de una biblioteca de clones bacterianos utilizando el gen que codifica el RNA ribosomal 16S, y, (2) la construcción de una biblioteca (meta)genómica a partir de muestras de DNA del huésped, del simbiote intracelular y de la comunidad simbiótica asociada al sistema digestivo. Aquí reportamos lo aprendido a través del primer enfoque. El análisis *in silico* de la biblioteca bacteriana identificó 26 unidades taxonómicas operacionales (OTUs) a 97% de distancia genética dentro de siete filos bacterianos: Bacillota, Pseudomonadota, Thermodesulfobacteriota, Bacteroidota, Chlorobiota, Chloroflexota y Verrucomicrobiota. Las curvas de rarefacción y los análisis de diversidad mostraron que la comunidad bacteriana glandular es diversa pero no equitativa, con Lachnospiraceae y Azonexaceae como taxa dominantes. La mayoría de las OTUs resultaron ser organismos anaerobios (90%), capaces de la digestión de macronutrientes (carbohidratos complejos y proteínas) dietarios (~65%), la reducción de metales (>50%) y la fijación de nitrógeno (~37%). Otras OTUs tiene el potencial de producir ácido láctico (~40%), ácidos grasos de cadena corta (>35%), y reducir sulfatos (38%) y/o percloratos (17%). Estas capacidades funcionales, sumadas a las del huésped, podrían ayudar a explicar la capacidad invasiva de algunas especies de ampuláridos como *P. canaliculata* y *P. maculata*.



## ANÁLISIS INTEGRADO DE ENZIMAS DIGESTIVAS EN EL TRACTO DIGESTIVO DEL INVASOR CARACOL MANZANA, *Pomacea canaliculata*

S. Escobar-Correas<sup>1</sup> & I.A. Vega<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>CSIRO, Environment, Australia; <sup>2</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>3</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

\*E-mail: [israel.vega7@gmail.com](mailto:israel.vega7@gmail.com)

**Palabras clave:** *Ampuláridos, Digestión, Proteoma*

La naturaleza invasiva de *Pomacea canaliculata* en diferentes ecosistemas naturales y artificiales se ha relacionado con diversas características de su biología. Estas características incluyen su resistencia a factores ambientales, su capacidad para regenerar tejidos en individuos adultos y reproducirse en diversas situaciones ecológicas. Además, tienen la capacidad de consumir diversos recursos tróficos, especialmente cuando faltan macrófitas. El sistema digestivo de este caracol polífago consta de varias partes: (a) la cavidad bucal que recibe las aberturas de un par de glándulas salivales, (b) el esófago con un par de glándulas ventrolaterales y un buche expandido en su porción medial que retiene los alimentos durante la digestión, (c) un estómago de tres cámaras, que comprende una molleja muscular, un vestíbulo que recibe la aberturas de la glándula digestiva y el saco del estilo, (d) un intestino delgado, (e) un intestino contoneado y (f) el recto con una glándula anal. Este resumen se basa en estudios bioquímicos y proteómicos del tracto digestivo de *P. canaliculata*. Se destaca la diversidad de celulasas y hemicelulasas en el esófago medio y el saco del estilo, que permiten la digestión de biopolímeros glucídicos complejos presentes en algas y paredes celulares de las plantas que comen. Esta diversidad enzimática parece estar relacionada con la presencia de genes expandidos de estas enzimas en el genoma del animal y su alta expresión en la glándula digestiva. También se encuentran amilasas y maltasas en estos lugares, que aseguran la digestión de glucógeno y almidón de las plantas, algas y animales de la dieta. Además, se resalta la diversidad de proteasas, especialmente metaloproteasas y serina peptidasas, que se encuentran en las glándulas salivales y digestivas. También se observan metaloproteasas exclusivas en el saco del estilo, lo que sugiere la participación de las bolsas ventrolaterales esofágicas y/o glándulas unicelulares en el tracto digestivo. La abundancia de serina proteasas en *P. canaliculata* se compara a la observada en otros gasterópodos, aunque sus condiciones óptimas para la actividad enzimática parecen estar alejadas del pH fisiológico del intestino y el rango de temperaturas en los que vive esta especie.



## NADIE ES PROFETA EN SU TIERRA: EXPANSIÓN DEL NICHOS CLIMÁTICO DE *Pomacea canaliculata* EN ÁREAS INVADIDAS Y SU FUTURA PROPAGACIÓN GLOBAL

P.R. Martín<sup>1,2,\*</sup> & M.E. Seuffert<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología, Departamento de Bioquímica, Biología y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>GECEMAC (Grupo de Ecología, Comportamiento y Evolución de Moluscos de Aguas Continentales), INBIOSUR (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [pablorafaelmartin@gmail.com](mailto:pablorafaelmartin@gmail.com)

**Palabras clave:** *Asia, América, Modelos de Nicho, Cambio Climático.*

Las invasiones biológicas representan en la actualidad una de las principales amenazas a la biodiversidad. *Pomacea canaliculata* es un caracol dulciacuícola nativo de la cuenca del Plata que se introdujo en diversas regiones del mundo, donde se convirtió en un exitoso invasor. Nuestro objetivo fue testear si existió un cambio en el nicho ecológico de esta especie entre su rango nativo y las regiones invadidas y predecir su distribución potencial global considerando las condiciones climáticas actuales y las predichas bajo distintos escenarios futuros de calentamiento global. Los resultados indican que el nicho de *P. canaliculata* se expandió sustancialmente entre su área de distribución nativa y las áreas invadidas en Asia y América del Sur, Central y del Norte. Esto puede ser el resultado de limitaciones en la dispersión en el área nativa o cambios en las interacciones bióticas y adaptación a nuevos ambientes climáticos en áreas invadidas, pero se necesitan evaluaciones estandarizadas del desempeño en áreas nativas e invadidas para comprender el papel de la evolución contemporánea en la expansión del nicho. Para la calibración de los modelos de distribución potencial global se consideraron tanto los registros de los rangos nativos como de los invadidos, para reflejar todas las condiciones ambientales donde las poblaciones pueden establecerse. Muchas áreas templadas, subtropicales y tropicales alrededor del mundo, donde actualmente hay registros de *P. canaliculata*, tales como América Central, del Sur, sureste de América del Norte, África subsahariana excluyendo el Kalahari, sur y este de Asia e islas del Pacífico, son especialmente idóneas, lo que sugiere posibilidades de expansión. También son idóneas regiones que aún no han sido invadidas como el sur Europa y Australia meridional y oriental. Los modelos futuros predicen que para el 2080 las áreas idóneas a escala global se contraerán más de lo que se expandirán y que los mayores cambios se producirán con el peor escenario de cambio climático, que proyecta un aumento en la temperatura promedio global de 5°C. Los cambios previstos más notables son la retracción en América del Sur, África y Australia y algunas pequeñas zonas de Europa, América del Norte y Asia; por otro lado, se predice una expansión hacia latitudes más altas, especialmente hacia áreas más al sur en la Patagonia norte y áreas más al norte en Estados Unidos y en Europa central. Estas predicciones permitirían focalizar y optimizar los esfuerzos para controlar la propagación de *P. canaliculata* nivel global.



## LA ESTRUCTURA DE LA HEMOCIANINA DE *Pomacea canaliculata* PROPORCIONA INFORMACIÓN SOBRE SU POSIBLE PAPEL EN EL SISTEMA INMUNE INNATO

T.R. Brola<sup>1</sup>, I.R. Chiumiento<sup>1</sup>, S. Ituarte<sup>1</sup>, H. Heras<sup>1</sup>, L.H. Otero<sup>2</sup> & M.S. Dreon<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner (INIBIOLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires, IIBBA. CONICET- Fundación Instituto Leloir

\*E-mail: [msdreon@med.unlp.edu.ar](mailto:msdreon@med.unlp.edu.ar)

**Palabras clave:** *Microscopía Electrónica Criogénica, Moluscos, Fenoloxidasa, Pigmento Respiratorio.*

Las hemocianinas son grandes proteínas multifuncionales que se encuentran en la hemolinfa de la mayoría de los moluscos y algunos artrópodos. Además de su conocido papel en el transporte de oxígeno, pueden actuar como fenoloxidasas (PO) y así participar de la respuesta inmune innata en el proceso de melanización. Resultados previos de nuestro laboratorio mostraron que la proteólisis limitada de la hemocianina de *Pomacea canaliculata* (PcH) induce actividad PO en este pigmento respiratorio. En este trabajo pretendemos ampliar el conocimiento estructural de las hemocianinas de moluscos en general y de gasterópodos en particular para interpretar así sus implicaciones fisiológicas derivadas. En particular, estudiamos la estructura tridimensional de PcH y, a partir de esta, interpretamos su posible mecanismo de inducción de actividad PO mediante proteólisis limitada. Para esto estudiamos a la PcH por microscopía electrónica criogénica (CryoEM) y mediante un análisis de partícula única obtuvimos un mapa de alta resolución que nos permitió construir un modelo tridimensional de la proteína. La estructura resultante muestra un reordenamiento cilíndrico didecamérico de simetría D<sub>5</sub>. Cada uno de los decámeros está compuesto por cinco dímeros antiparalelos, donde cada subunidad está compuesta por ocho unidades funcionales parálogas que muestran características estructurales conservadas entre las hemocianinas de moluscos. La alta resolución del mapa de densidad (4.4 Å) nos permitió identificar las interacciones que ocurren entre subunidades adyacentes y los contactos que estabilizan al didecamero. Además, pudimos determinar la presencia de asparaginas glicosiladas adscritas a seis sitios de N-glicosilación para cada subunidad. Finalmente, mediante un análisis *in silico* de la estructura de PcH, identificamos aquellos sitios de escisión proteolítica accesibles a proteasas que podrían iniciar la remodelación de su estructura e inducir actividad PO.

En el presente trabajo presentamos un modelo tridimensional de PcH con un nivel de resolución cercano al atómico, aportando al conocimiento estructural de este tipo de proteínas y que ayuda a interpretar su actividad PO inducible, reforzando así la idea de que las hemocianinas de moluscos pueden participar como PO en el sistema inmune innato.



## LOS HUEVOS DE LOS CARACOLES MANZANAS SON LA CAJA DE PANDORA: ¿UNA NUEVA HEMOPROTEÍNA EN EL REINO ANIMAL?

M.Y. Pasquevich<sup>1,2\*</sup>, I. Pavía<sup>1</sup>, L. Bauzá<sup>1</sup>, G. I. Benitez<sup>1</sup> & H. Heras<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata “Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner” (UNLP-CONICET), La Plata, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

\*E-mail: [mypasquevich@med.unlp.edu.ar](mailto:mypasquevich@med.unlp.edu.ar)

**Palabras clave:** Pigmentos, Hemoproteína, Perivitelinas, Ampuláridos, Hierro

Los moluscos gasterópodos son un grupo muy diverso de invertebrados cuyas proteínas y pigmentos de sus huevos han sido, con algunas excepciones, poco investigadas. Los estudios proteómicos han demostrado que los huevos de los caracoles manzana (*Pomacea* sp.) tienen más de 30 proteínas, de las cuales más del 50% son desconocidas y/o no caracterizadas. Nuestro grupo está centrado en clasificar, identificar y estudiar la estructura, funciones y evolución de estas proteínas desconocidas. Los huevos que oviponen fuera del agua son muy llamativos y reflejan diferente coloración abarcando una amplia gama de colores. Esta diferente pigmentación los hace un modelo ideal para investigar estrategias filogenéticas de coloración en animales. En este trabajo aislamos y caracterizamos una proteína de *Pomacea maculata*, presente en *Pomacea canaliculata*, pero no las especies del clado *Bridgesii*, de color amarillo que se encuentra en la fracción PV3 de los huevos. La proteína, en adelante denominada PmaHP, se purificó combinando centrifugación diferencial, ultracentrifugación en gradiente de densidad, y HPLC. Luego se estudió PmaHP mediante espectrofotometría UV-VIS, electroforesis y espectrometría de masas. Su secuencia se comparó con homólogos de otros moluscos y se predijeron bioinformáticamente posibles sitios de unión al pigmento. El espectro de absorción es típico de las metaloporfirinas y el análisis ICP-MS reveló que el metal es hierro. La metaloproteína presenta características de proteínas básicas y es positiva para tinción de hemo con TMB. Posee un PM de 18,2 kDa y se identificó por Espectrometría de Masas la secuencia completa de aminoácidos. La similitud de secuencia con otras proteínas homólogas de moluscos es del 48-52% y la estructura tridimensional contiene tres potenciales sitios de unión para el grupo hemo. Un suero anti-PmaHP reaccionó cruzadamente con una proteína de mayor peso molecular presente en el huevo, lo que sugiere que proviene de un precursor de mayor tamaño. Describimos la presencia de un pigmento no antes reportado en los huevos de *Pomacea*, que forma una hemoproteína soluble, extracelular, sin homología de secuencia con hemoproteínas del reino animal y cuyas homólogas no presentan estos potenciales sitios de unión al hemo. Hasta el momento solo estaban descriptos en los huevos de *Pomacea* pigmentos exógenos, provenientes de la dieta. La presencia de pigmentos endógenos en los huevos de *Pomacea* pone de manifiesto el aumento de complejidad en el color de los huevos en las especies del linaje más derivado. En este trabajo aportamos información sobre la estructura de una hemoproteína aun no reportada en el reino animal.



## CARACTERIZACIÓN DEL METABOLISMO REDOX DE AMPULARIAS COLECTADAS DURANTE INVIERNO Y VERANO, EN UN CUERPO DE AGUA DE MENDOZA, ARGENTINA.

M. Giraud-Billoud<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. <sup>3</sup>

Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Ciencias de la Salud-Medicina, Universidad Nacional de Villa Mercedes, San Luis, Argentina.

\*E-mail: [mgiraudbilloud@gmail.com](mailto:mgiraudbilloud@gmail.com)

**Palabras clave:** *Preparación para el Estrés Oxidativo, Antioxidantes, Radicales Libres, Factores de Transcripción REDOX sensibles.*

Cuando la ampularia *Pomacea canaliculata* es expuesta a condiciones de estrés ambiental, como estivación o hibernación, pone en marcha mecanismos de protección de daño por estrés oxidativo (EsOx). El objetivo de este trabajo fue identificar si esta respuesta adaptativa fisiológica, caracterizada en condiciones controladas de laboratorio, también es empleada en animales que se encuentran en su propio hábitat natural. Para esto, se muestrearon animales adultos en invierno y verano de 2022, en una población establecida en el departamento de Tunuyán, de la provincia de Mendoza. Muestras de músculo del pie fueron obtenidas por disección directa y fueron procesadas para la determinación de los siguientes parámetros: marcadores de daño por EsOx (TBARs), actividad de enzimas antioxidantes (CAT, SOD y GST) y concentración de ácido úrico, como antioxidante no enzimático. Además, en muestras tisulares de los mismos ejemplares se extrajo material genético para determinar la expresión de genes REDOX-sensibles (FOXO, HIF, Nrf2, NfKB) por PCR de tiempo real. En el mes de junio, momento del muestreo de invierno, los animales se encontraban inactivos en hibernación, dado que la temperatura del agua registrada en la mañana era de 8°C, mientras que en el muestreo de verano, realizado en diciembre, la temperatura era de 25°C y los animales se encontraban activos. Durante la hibernación pudimos observar que los niveles de TBARs eran significativamente mayores en el músculo y riñón, mientras que eran menores en el riñón, en comparación con los animales activos. En cuanto a los antioxidantes, la SOD y la CAT mostraron una actividad significativamente mayor en animales hibernantes, mientras que la GST no presentó cambios significativos. La concentración de ácido úrico fue significativamente mayor en animales hibernantes, en comparación con el control. La expresión génica de factores de transcripción REDOX sensibles evidenció únicamente una disminución significativa en la expresión de HIF de animales hibernantes, en comparación con los animales activos. El estrés oxidativo que presentan los animales hibernantes se ve acompañado de un incremento de las defensas antioxidantes, que probablemente se relacionan al intento de protección de los tejidos durante el período de hipometabolismo, como así también pueden representar un mecanismo anticipatorio de protección ante la reactivación tisular, cuando la temperatura del agua se eleva y los animales quedan expuestos a potencial daño por reoxigenación. Esta respuesta posiblemente esté mediada por los factores de transcripción que mantienen su expresión de manera constante tanto en invierno como en verano (FOXO-NfKB).



## LA PARADOJA DEL BUEN VEGETARIANO: ¿PUEDE UN CARACOL PLAGA E INVASOR SALVAR A LAS PLANTAS NATIVAS?

M. Márquez<sup>1,\*</sup>; L. Saveanu<sup>1,2</sup>, A.M. Martínez<sup>3</sup> & P.R. Martín<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología, Departamento de Bioquímica, Biología y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>GECEMAC (Grupo de Ecología, Comportamiento y Evolución de Moluscos de Aguas Continentales), INBIOSUR (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. <sup>3</sup>INQUISUR – Departamento de Química (UNS-CONICET), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\* E-mail: [marguezmatias19@gmail.com](mailto:marguezmatias19@gmail.com)

**Palabras clave:** *Macrofitofagia, Herbivoría Diferencial, Resistencia Biótica.*

La herbivoría diferencial de *Pomacea canaliculata* sobre distintas especies de macrófitas la ha señalado como un posible agente de resistencia biótica, entendida como los efectos negativos que especies residentes tienen sobre nuevas especies que llegan. Dentro del rango nativo de distribución de este caracol, en un experimento breve de laboratorio, evaluamos palatabilidad y preferencia de cuatro macrófitas para posteriormente determinar, en un experimento al aire libre, si la ingesta diferencial de esas macrófitas alteraba las relaciones de dominancia entre nativas y exóticas, sumergidas y flotantes y si afectaban al fitoplancton y a variables fisicoquímicas del agua y del sedimento. Las macrófitas de hojas sumergidas utilizadas fueron *Stuckenia striata* (nativa) y *Vallisneria spiralis* (exótica) y las de hojas flotantes *Ludwigia peploides* (nativa) y *Limnobium laevigatum* (exótica). En el experimento de laboratorio, a 54 machos con 24h de ayuno, durante 24h ofrecimos en acuarios individuales, macrófitas del mismo hábito de crecimiento individual y conjuntamente. Antes y después del ofrecimiento registramos el peso de cada macrófita, estimando por diferencia la tasa de ingestión. Los resultados mostraron que, para ambos hábitos de crecimiento, la exótica era preferida respecto de la nativa con ingestas mayores cuando la exótica se ofreció sola que junto a la nativa y con ingestiones de sumergidas que duplicaron las de flotantes. En el experimento al aire libre mantuvimos durante el verano 16 mesocosmos con fondo de sedimento natural. En ocho mesocosmos colocamos las dos macrófitas de hojas sumergidas y en los restantes las dos de hojas flotantes. La mitad de los mesocosmos de cada hábito de crecimiento de macrófitas tuvieron dos machos de *P. canaliculata* y los restantes ninguno (control). Quincenalmente estimamos la cobertura de cada macrófita como porcentaje de la superficie de cada mesocosmos, y al final tomamos muestras de agua y sedimento. Como resultado registramos que *P. canaliculata* no afectó la cobertura de especies flotantes, disminuyó la de sumergidas, especialmente de la exótica, y provocó aumentos en las concentraciones de clorofila y fósforo total. Por lo tanto, en su rango de distribución nativo, *P. canaliculata* ejerce un rol en la resistencia biótica de la comunidad que habita, dada su preferencia por macrófitas exóticas, reduciendo sus posibilidades de establecimiento y favoreciendo la dominancia de las nativas. Sin embargo, la liberación de nutrientes debido a las altas tasas de ingestión de macrófitas desencadena un pasaje de aguas claras con preponderancia de macrófitas a uno de aguas turbias dominado por fitoplancton.



## EVOLUCIÓN DE DEFENSAS CLADO-ESPECÍFICAS EN LOS HUEVOS DE AMPULÁRIDOS

T.R. Brola<sup>1</sup>, M.Y. Pasquevich<sup>1</sup>, M.L. Giglio<sup>2</sup>, P.E. Fernández<sup>3</sup>, A. Cocucci<sup>4</sup>, M.S. Dreon<sup>1</sup>, y Heras<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata "Profesor Doctor Rodolfo R. Brenner", INIBIOLP (CONICET-UNLP), La Plata, Buenos Aires. <sup>2</sup>Department of Biology, University of Utah, Salt Lake City, EEUU. <sup>3</sup>Instituto de Patología B. Epstein. Cátedra de Patología General, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP, La Plata, Buenos Aires. <sup>4</sup>Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-UNC), Córdoba.

\*E-mail: [h-heras@med.unlp.edu.ar](mailto:h-heras@med.unlp.edu.ar)

**Palabras clave:** *Toxinas, Aposematismo, Mimetismo, Defensas Antidepredador*

Los animales ovíparos han evolucionado diversas estrategias que disuaden de la depredación a sus huevos. En las especies terrestres, estos incluyen compuestos nocivos y señales de advertencia aposemáticas, pero se sabe poco en ambientes de agua dulce. Los caracoles manzana del género *Pomacea* (Caenogastropoda: Ampullariidae) han diversificado la protección de sus huevos con puestas de diferente coloración y con variados conjuntos de moléculas nocivas brindando un buen modelo para estos estudios. Estudiamos la interrelación entre señales de advertencia, pigmentación y toxicidad, comparando estos rasgos en dos clados de *Pomacea* (cuatro especies) y evaluamos si serían aposemáticos y tóxicos para las aves como potenciales depredadores. Los huevos del clado canaliculata acumulan varias veces más pigmentos carotenoides que los del clado bridgesii con predominio de cetocarotenoides e hidroxí-cetocarotenoides (más rojizos), mientras que los hidroxícarotenoides (más amarillentos) predominan en los del clado Bridgesii, indicando vías anabólicas clado-dependientes. Las señales de color resultantes se evaluaron colectando puestas de las cuatro especies y caracterizándolas mediante análisis de los espectros de reflectancia y modelos visuales. Cada especie tiene un espacio de color propio que sería discernible para los modelos visuales de dos aves acuáticas presentes en el hábitat de estos caracoles. No obstante, tendrían dificultad para discernir algunos pares de puestas, sugiriendo un probable mimetismo de los huevos, dada su simpatría parcial, al menos en su rango nativo de distribución en América del Sur. La presencia de defensas bioquímicas clado-específicas se evaluó alimentando un ave modelo, *Coturnix coturnix* (Galliformes: Phasianidae) con extractos de huevos. Si bien la ingestión del fluido de los huevos de ambos clados indujo fuertes alteraciones morfológicas reversibles en su intestino, sus efectos fueron marcadamente diferentes. Además, ensayos de letalidad mostraron una toxicidad diferencial hacia las aves, siendo los huevos del clado canaliculata, el linaje más derivado, letales para las codornices, mientras que los del clado Bridgesii no lo fueron. En su conjunto, este análisis filogenético comparativo reveló una correlación entre la capacidad de modificar los pigmentos de la dieta, la coloración conspicua y la toxicidad de los huevos. En este estudio presentamos evidencia experimental de que el color actúa como una señal aposemática honesta en los caracoles manzana, al menos para las aves, y ampliamos la información de la importancia adaptativa de sus defensas y los mecanismos a través de los cuales operan.



## ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE HEMOCIANINA EN *Pomacea canaliculata*

C. Rodriguez<sup>1,2,3,\*</sup>, F.A. Dellagnola<sup>1,2,3</sup>, C. Cruz-Flores<sup>1,2,3</sup>  
& A. Castro-Vazquez<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza Argentina. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina.

\*E-mail: [rodriguez.c.icb@gmail.com](mailto:rodriguez.c.icb@gmail.com)

**Palabras clave:** Hematopoyesis, Pigmentos Respiratorios, Rogocitos, Sistema Inmune.

Un componente importante de la hematopoyesis en gasterópodos es la síntesis del pigmento respiratorio. En casi todos los gasterópodos, este pigmento es la hemocianina, una megaproteína (~4–13 MDa) a la que se le han atribuido, además, funciones inmunológicas. Se conoce una variedad de isoformas de la hemocianina, y la información sobre sus posibles sitios de síntesis es incompleta y a veces contradictoria. Desde los primeros estudios en *Cornu aspersum* (como *Helix aspersa*), que mostraron cristales de hemocianina en los rodocitos, se ha asociado a estas grandes células con la síntesis de esta proteína. En *Pomacea canaliculata* hemos encontrado que estas células se asocian al tejido de acumulación de uratos, que tiene una distribución precisa, e incluye al pulmón, la ampolla aórtica y la glándula digestiva, pero no al riñón. Nuestro interés en este proyecto es determinar la capacidad de expresión de estos tejidos y correlacionarlos con la presencia o no de rodocitos y de células de urato. Utilizamos secuencias de dos isoformas de la hemocianina de *P. canaliculata* (*PcH-I* y *PcH-IIb*) en estos órganos. Identificamos rodocitos en todos los órganos con tejido de acumulación, distribuidos entre los urocitos. También optimizamos una técnica para extraer y purificar el RNA expresado en los distintos órganos. Una vez obtenidas las muestras de RNA, se realizó la retrotranscripción a cDNA para su cuantificación mediante espectrofluorimetría. Detectamos expresión de hemocianina en los órganos con tejido de uratos, el que es siempre acompañado de rodocitos, pero no en el riñón, donde no observamos tejido de uratos ni rodocitos. En cambio, solo observamos polímeros de hemocianina en lagunas hemocélicas asociadas a los islotes renales. Hipotetizamos que las unidades de hemocianina son sintetizadas por los rodocitos, para después ser secretada y alcanzar los islotes renales donde es finalmente polimerizada. Además, aprovechando la información genómica sobre *P. canaliculata*, diseñamos un conjunto de iniciadores capaz de amplificar una región génica compatible con el gen *PcH-IIb* y los resultados de PCR arrojaron una banda del tamaño molecular esperado (107 pb) en todos los animales estudiados (juveniles y adultos). Actualmente nos encontramos estudiando (mediante qPCR) los patrones de expresión en los distintos órganos de juveniles y adultos. Además, desarrollamos una sonda de DNA capaz de reconocer el producto de PCR que, al menos *in silico*, muestra gran homología con genes de Heterobranchia.



## PAPEL DE LA HEMOCIANINA DE *Pomacea canaliculata* EN EL SISTEMA INMUNE INNATO Y SU POTENCIAL BIOMÉDICO

I.R. Chiumiento<sup>1,\*</sup>, T.R. Brola<sup>1</sup>, S. Ituarte<sup>1</sup>, H. Heras<sup>1</sup> & M.S. Dreon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata Prof. Dr. Rodolfo R. Brenner (INIBIOLP), La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [igchiumiento@gmail.com](mailto:igchiumiento@gmail.com)

**Palabras clave:** *Moluscos, Fenoloxidasa, Péptidos Antimicrobianos, Inmunoestimulante.*

Las hemocianinas son cuproproteínas de gran peso molecular, descritas como pigmentos respiratorios en la hemolinfa de moluscos. Recientemente ha cobrado relevancia su participación en la inmunidad innata de invertebrados, ya sea a través de su actividad fenoloxidasa en el proceso de melanización o como potencial macromolécula precursora de péptidos antimicrobianos (PAMs). Ambas funciones podrían activarse por un remodelado proteolítico de su estructura mediante proteasas exógenas o endógenas en respuesta a una infección. Otra arista no menos interesante de este tipo de proteínas es su efecto inmunoestimulante en vertebrados, con al menos una hemocianina de molusco, conocida como KLH, actualmente en uso para el tratamiento del cáncer de vejiga. El presente trabajo intenta aportar a estas discusiones, focalizando sobre aspectos estructurales y funcionales de la hemocianina de *Pomacea canaliculata* (PcH). La PcH se purificó desde la hemolinfa de caracoles empleando ultracentrifugación y cromatografía líquida de exclusión molecular. Mediante espectrometría de masas se obtuvieron secuencias internas de la proteína que permitieron obtener la secuencia aminoacídica completa de tres de sus isoformas desde el transcriptoma y genoma de la especie. Esto permitió realizar un primer análisis estructural *in silico* de PcH que, complementado con microscopía electrónica de transmisión, reveló una estructura cilíndrica decamérica con ocho unidades funcionales (UFs) por subunidad, cada una de ellas con un dominio  $\alpha$ -helicoidal que porta el sitio activo, y otro de hoja  $\beta$ -plegada. Se caracterizó la actividad fenoloxidasa intrínseca de PcH, lográndose inducción de actividad bajo proteólisis limitada con tripsina, quimotripsina y subtilisina. Adicionalmente, PAMs predichos a partir de la secuencia de PcH fueron sintetizados y resultaron activos contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Finalmente, se exploró la capacidad inmunoestimulante de PcH sobre monocitos humanos THP-1. PcH promovió un perfil de citoquinas proinflamatorio determinado por ELISA, junto a una diferenciación morfofisiológica a macrófagos caracterizada por citometría de flujo y expresión de marcadores, sin observarse efectos citotóxicos. Estos resultados, junto con la fácil crianza y manipulación de estos caracoles, sientan las bases para seguir indagando sobre una potencial aplicación biomédica de esta hemocianina.



## AMPULÁRIDO EN APUROS: ESTADO ACTUAL, AMENAZAS Y ESTRATEGIAS DE CONSERVACIÓN DE UN ENDEMISMO DE LOS RÍOS IGUAZÚ Y ALTO PARANÁ

A.L. Soria<sup>1,\*</sup>, S. Burela<sup>2</sup> & P.R. Martín<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>INBIOSUR UNS-CONICET, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [abrilsoria050@gmail.com](mailto:abrilsoria050@gmail.com)

**Palabras clave:** *Pomacea americanista*, Conservación, Ecología, Difusión.

Los gasterópodos de agua dulce representan el mayor porcentaje de especies amenazadas según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y uno de los mayores porcentajes de especies con información insuficiente. *Pomacea americanista*, una especie endémica de los ríos Iguazú y Alto Paraná, fue categorizada como En Peligro en el Libro Rojo de los Moluscos Argentinos debido a la retracción que ha sufrido dentro de su restringida distribución histórica, entre otras amenazas. El objetivo de este proyecto es determinar el estado de conservación de *P. americanista* y sus tendencias futuras, comprender las amenazas que enfrenta y proponer medidas para su conservación y la de otros gasterópodos nativos, incluyendo la divulgación del conocimiento obtenido hacia las comunidades locales, técnicos y tomadores de decisiones. Se recolectará información sobre la distribución histórica a partir de las colecciones de museos de Argentina, Uruguay, Paraguay y Brasil. Para determinar la distribución actual se realizarán dos campañas anuales de muestreo en Misiones. A partir de estas se realizará una caracterización del hábitat de *P. americanista* y de su microhábitat de oviposición. Se evaluará el impacto de las crecidas artificiales en el río Iguazú sobre las puestas de huevos incluyendo su disgregación, tiempo hasta la eclosión y viabilidad de las puestas. Se emplearán datos bioclimáticos de 1970 a 2000 para desarrollar un modelo de nicho ecológico y el mismo se proyectará bajo diferentes escenarios climáticos futuros. El proyecto también se enfocará en desarrollar un método de cría en masa y en identificar posibles sitios para reintroducir poblaciones de la especie. Se presentarán propuestas a las autoridades competentes para la reintroducción, utilizando poblaciones *ex situ* como fuente de gasterópodos, y se llevará a cabo un seguimiento anual del éxito de estas reintroducciones. Además, se realizarán encuestas al personal del Parque Nacional Iguazú (PNI), visitantes y los residentes de las áreas aledañas para evaluar el nivel de conocimiento sobre esta especie. Sobre esa base se implementarán actividades de divulgación dirigidas al personal del PNI, sus visitantes y a las comunidades locales para difundir información sobre la especie, su estado de conservación y la importancia de proteger estas especies menos conocidas, para así atribuirles un valor cultural. Realizadas las actividades se repetirán las encuestas para evaluar su impacto sobre la percepción y valoración de los ampuláridos y otros caracoles por parte de los distintos actores, buscando ajustar y mejorar su eficiencia. Se espera así, impactar positivamente sobre el estado de conservación de *P. americanista*.



## ORIGEN DE LAS DEFENSAS POR PERIVITELINAS EN *Pomacea*

I. Pavía<sup>1,\*</sup>, M.Y. Pasquevich<sup>1</sup>, & H. Heras<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata "Profesor Doctor Rodolfo R. Brenner", La Plata, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [jpavia@med.unlp.edu.ar](mailto:jpavia@med.unlp.edu.ar)

**Palabras clave:** *Toxinas, Perivitelinias, Defensa Animal, Caracol Manzana, Ampullariidae*

Los caracoles dulceacuícolas del género *Pomacea* (Ampullariidae) son gasterópodos nativos de América que depositan huevos calcáreos fuera del agua. Estos huevos, poseen un fluido perivitelino (FPV) cuyas proteínas (perivitelinias) nutren y protegen al embrión. Los linajes ramificados más recientemente: clado Canaliculata y clado Bridgesii, combinan como defensa antidepredación perivitelinias pigmentadas antinutritivas (no digeribles) llamadas PV1, con proteínas inhibidoras de proteasas, lectinas y una toxina, llamada PV2. Sin embargo, la información sobre las defensas en linajes de ramificación temprana es escasa. Nuestro objetivo es comenzar a comprender la evolución del sistema de defensa del género *Pomacea*. Para ello, estudiamos las perivitelinias en *Pomacea sordida*, especie endémica de Río de Janeiro, Brasil, perteneciente al clado Flagellata, el linaje ramificado más tempranamente y lo comparamos con la información existente de los clados más derivados. Un estudio preliminar mostró que *P. sordida* presenta proteínas antinutritivas, inhibidores de proteasas y lectinas. Para profundizar dicha caracterización analizamos la toxicidad del FPV en murinos mediante inyección intraperitoneal y administración oral. También analizamos la presencia de perivitelinias homologas a las de las especies estudiadas previamente, mediante Western Blot con anticuerpos anti PV1 de *P. canaliculata* y *P. scalaris*, y anti-PV2 de *P. canaliculata*. Además, se secuenció el transcriptoma de la glándula del albumen (encargada de sintetizar las perivitelinias), y se analizó la presencia de perivitelinias homólogas a PV1, PV2 e inhibidores de proteasas, mediante herramientas bioinformáticas. El FPV (de 200 µL, 2,64 µg/µL) causó 100% de mortalidad a los ratones antes de las 96 horas de ser administrado por vía intraperitoneal y por vía oral alteró la superficie absortiva que disminuye significativamente a las 24 h además de observarse hiperemia, infiltración de macrófagos y linfocitos entre los fibroblastos y edema en el corion de las vellosidades intestinales. A las 48 h hay una tendencia del intestino a revertir hacia la morfología normal. El FPV de *P. sordida* posee proteínas con reactividad cruzada con anticuerpos anti-PV1 y anti-PV2. Además, se identificaron proteínas homologas a las subunidades de PV1, PV2, e inhibidores de proteasas en el transcriptoma de la glándula del albumen. Podemos concluir que los huevos de *P. sordida* son letalmente tóxicos para murinos, donde la PV2 podría ser la responsable de la toxicidad. La presencia de PV1, PV2, lectinas e inhibidores de proteasas en una especie de ramificación temprana indicaría que la defensas por perivitelinias se habrían originado tempranamente en el género y evolucionaron diferencialmente en cada clado.



## DOS HERMANAS QUE NO SE VEÍAN AQUÍ DESDE EL CRETÁCICO (VIVIPARIDAE Y AMPULLARIIDAE)

C. Cruz-Flores<sup>1,\*</sup>, F.A. Dellagnola<sup>1,2,3</sup>, C. Rodríguez<sup>1,2</sup> & A. Castro-Vazquez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina;

<sup>3</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

\*E-mail: [cesarcruzflores@gmail.com](mailto:cesarcruzflores@gmail.com)

**Palabras clave:** *Ampullariidae*, *Viviparidae*, *Endosimbiontes*, *Glándula Digestiva*

Las relaciones filogenéticas de los taxones de Architaenioglossa constituyen un problema no resuelto. Los trabajos recientes reconocen una superfamilia (Ampullarioidea) integrada por dos familias hermanas (Ampullariidae y Viviparidae), y otras cinco integradas en la superfamilia Cyclophoroidea). Mientras que la evolución de los ampuláridos parece haberse restringido al Gondwana, los vivipáridos han ocupado también parte de Neartica y Palearctica. La primera descripción de corpúsculos pigmentados en la glándula digestiva de un arquiteniogloso fue hecha por Leydig en *Viviparus viviparus* (como *Paludina vivipara*). Estos hallazgos fueron seguidos por otros similares en ampuláridos índicos y neotropicales, y entre estos últimos, especies de los géneros *Pomacea* y *Asolene*. Para estas últimas hemos propuesto que los corpúsculos serían simbioses intracelulares transmitidos verticalmente, es decir, directamente de la madre a la cría, y por tanto, susceptibles de co-evolucionar con el huésped. Por eso, la extensión de nuestros estudios en ampuláridos a los vivipáridos sería de interés para dilucidar las relaciones filogenéticas entre ambas familias. Sin embargo, los vivipáridos se extinguieron en Sudamérica hacia fines del Cretácico, por lo que este estudio fue facilitado por el hallazgo de Ovando y Cuezco de un vivipárido invasor en las sierras de Córdoba, i.e., *Sinotaia quadrata* (Benson, 1842), que es originario de China y del sudeste asiático. Encontramos abundantes corpúsculos amarrados en el epitelio de la glándula digestiva de esta especie, en línea con las observaciones de Leydig en *V. viviparus*, aunque la microscopía electrónica descartó toda posible homología con los de los ampuláridos actuales. Pero, abierta la caja de Pandora, aparecieron en el epitelio glandular de *S. quadrata* otros dos tipos de corpúsculos intracelulares que hibridan con una sonda específica para el RNA ribosomal 16S, y que señala, por tanto, el origen procarionta de las estructuras que hibridan con ella. Para nuestra sorpresa, la sonda hibridó con grandes gránulos eosinófilos, presentes en células caliciformes del epitelio glandular, así como sobre pequeños gránulos intracitoplasmáticos de células del intersticio. Nos han intrigado las observaciones (no publicadas) que hicimos hace años, de células parecidas en el intersticio glandular de un neogasterópodo, es decir, un organismo filogenéticamente muy apartado de *S. quadrata*. En *O. magellanica*, la microscopía electrónica permitió identificar a estos pequeños gránulos con bacterias Gram-negativas (Winik, observaciones no publicadas). Esto abre la interesante pregunta del origen o reservorio de estas bacterias. Nuestra hipótesis, tanto para *Odontocymbiola* como para *Sinotaia*, es que estas bacterias habitarían el compartimento endocítico de las células huésped.



## TOLERANCIA DIFERENCIAL AL ESTRÉS AMBIENTAL EN NEONATOS DE CARACOLES DULCEACUÍCOLAS INVASORES Y NO INVASORES: ¿DOS CARAS DE LA MISMA MONEDA?

R.P. Amondarain<sup>1,2,\*</sup>, N.E. Tamburi<sup>2,3</sup> & P.R. Martín<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina; <sup>2</sup>INBIOSUR (CONICET-UNS), Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina;

<sup>3</sup>Departamento de Matemática, Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

\*E-mail: [amondarain.r@gmail.com](mailto:amondarain.r@gmail.com)

**Palabras clave:** *Temperatura, Deseccación, Ayuno.*

La resistencia a estresores ambientales se encuentra dentro de los factores que determinan si una especie será vulnerable o, por el contrario, potencialmente invasora en un determinado ambiente. En los caracoles de agua dulce el estadio neonato ha sido en general el menos estudiado del ciclo de vida en este aspecto, aunque es probablemente el más sensible. Por ello, decidimos comparar la tolerancia a cuatro factores de estrés ambiental: ayuno, desecación y dos temperaturas extremas (5°C y 35°C) en neonatos de seis especies de caracoles dulceacuícolas presentes en el Sudoeste Bonaerense, tres de ellos con capacidad invasora conocida (*Physella acuta*, *Melanooides tuberculata* y *Pomacea canaliculata*) y tres que a la fecha no poseen antecedentes invasores (*Chilina parhappii*, *Heleobia parhappii* y *Biomphalaria peregrina*). Para ello, estudiamos la supervivencia de 20 neonatos de cada especie a estos factores de estrés. Los ensayos se realizaron en cámara de incubación bajo condiciones controladas, utilizando neonatos con menos de 72 horas de vida. El análisis de supervivencia lo realizamos utilizando el método de Kaplan-Meier y las diferencias entre especies las comparamos con el test de Tarone-Ware. A excepción de las bajas temperaturas, donde las especies no invasoras se destacaron, *P. canaliculata* en primer lugar, y *M. tuberculata* en segundo, mostraron las mayores resistencias generales al estrés ambiental. Los resultados indican que la tercera invasora, *P. acuta* tiene una tolerancia general más cercana a la de las especies no invasoras. El ayuno y las temperaturas extremas fueron los estresores que mostraron mayores diferencias entre especies, por lo que estos factores brindarían más información acerca del potencial invasor o vulnerabilidad de las especies en los diferentes ambientes que la tolerancia a la desecación. Debido a que las seis especies evaluadas pertenecen a diferentes familias, y con el objetivo de controlar la influencia de variables anatómicas y biológicas, se decidió comparar a la especie que mostró mayor tolerancia combinada a los factores, *P. canaliculata*, con su congénere no invasora *Pomacea scalaris*. Los resultados muestran que *P. canaliculata* también superó significativamente los tiempos de supervivencia de *P. scalaris* en los estresores analizados (deseccación, ayuno y temperatura elevada). En conclusión, a excepción de *P. acuta*, la tolerancia de los neonatos parece ser uno de los determinantes de la invasividad en los caracoles dulceacuícolas, entre los que se destaca *P. canaliculata* en ambientes tropicales, subtropicales y templados.



## EL GEN ITS2 Y SU PRODUCTO COMO HERRAMIENTA TAXONÓMICA Y FILOGENÉTICA EN NUESTROS AMPULÁRIDOS

F.A. Dellagnola<sup>1,2,3,\*</sup> & I.A. Vega<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>IHEM, CONICET, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina; <sup>3</sup>Instituto de Fisiología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina

\*E-mail: [dellagnola@gmail.com](mailto:dellagnola@gmail.com)

**Palabras clave:** *Taxonomía, Filogenia, Gen ITS2*

En la taxonomía de los moluscos, el segundo filo más diverso de los animales, los caracteres morfológicos externos son utilizados para clasificar y emparentar a especies afines. Sin embargo, a veces hay pocos caracteres fenotípicos para codificar en una matriz, limitándose a caracteres conquiológicos, la rádula, y la descripción de partes blandas de órganos específicos (particularmente órganos reproductivos). Los ampuláridos presentan además una interesante variación conquiológica intraespecífica que es explicada tanto por la genética de las especies como por las condiciones ecológicas de los ecosistemas que habitan. Esa variación morfológica dificulta además la identificación de poblaciones raras o con poco esfuerzo de investigación. Desde una perspectiva molecular, la hipótesis filogenética (con cinco marcadores moleculares) propuesta por Hayes en 2009 permitió identificar diferentes clados gondwánicos de ampuláridos, aunque el grupo hermano de la familia quedó como una materia pendiente. Sin embargo, la metodología molecular suele ser difícil, costosa, y ‘poco intuitiva’. Sin entrar en “la grieta” de morfólogos y biólogos moleculares, recientemente hemos pensado en la amplificación, modelado y análisis del gen ITS2 para aplicar a este problema taxonómico. Es así que echamos mano al ADN de nuestras muestras almacenadas en el laboratorio y amplificamos exitosamente al gen ITS2 en el 48% de los ejemplares estudiados de nueve especies de ampuláridos neotropicales. Aunque aún no secuenciamos estos amplicones, iniciamos un análisis bioinformático sobre secuencias de ADN de cenogasterópodos, depositadas en las bases de datos. Modelamos también la estructura secundaria del producto ARN y establecimos hipótesis filogenéticas basadas tanto en el genotipo (ADN) como en el fenotipo (estructura 2D del ARN y los cambios de base compensatorios (CBCs) que se suponen especie-específicos y/o marcadores de barreras de compatibilidad sexual). Encontramos que la filogenia basada en el ADN refleja la aceptada para Ampullariidae, pero discrimina poco a secuencias de la misma especie; sin embargo, el modelado 2D del ARN permite discriminar secuencias de individuos de *P. canaliculata* de diferentes locaciones y los CBCs distinguen claramente a las especies de cenogasterópodos incluidas en el análisis. Sugerimos desarrollar el análisis del ITS2 y su producto por ser una herramienta molecular sencilla que permitiría, asociado a metodologías clásicas desarrolladas por nuestros grupos de estudio de Argentina (estudios de morfología conquiológica, de ciclo de vida, y de características de las puestas de huevos) discriminar especies crípticas de ampuláridos, distinguir poblaciones geográficas, e identificación de barreras de aislamiento reproductivo.



**Asociación Argentina de Malacología**  
*Puerto Madryn – Chubut- Argentina*

María Yanina Pasquevich (compiladora y editora)  
Alejandra Daniela Campoy-Díaz (editora)

ISBN 978-987-47791-4-4

