

DRA. NORMA D. FIGLAS

INFORME CIENTÍFICO-TECNOLÓGICO

PERÍODO AGOSTO 2014 – AGOSTO 2015



INFORME PERIODO agosto 2014-agosto 2015

1. APELLIDO **Figlas**

Nombre(s) **Norma Débora**

Título(s) **Lic. Bioquímica. Dra. Bioquímica** Dirección Electrónica dfiglas@criba.edu.ar

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s) Cubitto, María Amelia

Cargo Institución: Profesor Microbiología Industrial y de los Alimentos- UNS

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

a) Bioconversión de cáscara de girasol por hongos comestibles y medicinales

b)

c)

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución CERZOS. CCT-CONICET

Dependencia Laboratorio de Hongos Comestibles y Medicinales

Dirección: Calle Camino La Carrindanga N° Km 7

Ciudad Bahía Blanca C. P 8000 Prov. Buenos Aires Tel 4861124

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre.....
Dependencia.....
Dirección: Calle.....Nº.....
Ciudad.....C. P.....Prov.....Tel.....
Cargo que ocupa.....

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO (Debe exponerse la actividad desarrollada, técnicas empleadas, métodos, etc. en dos carillas como máximo, en letra arial 12, a simple espacio)

8. OTRAS ACTIVIDADES

8.1 PUBLICACIONES, COMUNICACIONES, ETC. Debe hacerse referencia, exclusivamente, a aquellas publicaciones en las cuales se ha hecho explícita mención de la calidad de personal de apoyo de la CIC. Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo en el mismo orden en que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, año y, si corresponde, volumen y página, asignándole a cada uno un número.

8.2 CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC. Indicar la denominación del curso, carga horaria, institución que lo dictó y fecha, o motivos del viaje, fecha, duración, instituciones visitadas y actividades realizadas.

8.3 ASISTENCIA A REUNIONES CIENTIFICAS/TECNOLOGICAS o EVENTOS SIMILARES. Indicar la denominación del evento, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo y título(s) del(los) trabajo(s) o comunicación(es) presentada(s).

9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.

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

PAUTAS A SEGUIR EN LA ELABORACIÓN DEL INFORME

Pautas generales

- El informe debe contener los títulos y subtítulos completos que se detallan en hojas adjuntas y un índice
- Se deben anexar al final del informe las copias de las publicaciones, resúmenes de trabajos, informes y memorias técnicas a los que se hace referencia en el desarrollo del mismo, así como cualquier otra documentación que se considere de interés.**
- El informe se deberá presentar impreso en hojas perforadas A-4. En la etiqueta de mismo se consignará el apellido y nombre del Personal de Apoyo y la leyenda «Informe Científico-tecnológico período 2012/2013.
- La presentación deberá realizarse en papel y enviar copia del mismo en soporte electrónico al e- mail personalapoyo@cic.gba.gov.ar
- Incluir en la presentación del informe (en sobre cerrado) la opinión del Director.

Indice

7. Exposición sintética de la labor desarrollada en el período

7.1 Ureólisis de la cáscara de girasol con distintas dosis de harina de soja y 3 % de urea para su posible uso como sustrato sin decontaminar

Determinación de la actividad ureásica-----	1
Recuento de colonias de bacterias-----	1
Determinación de urea y amoníaco- Método enzimático-----	1

7.2 Cultivo del hongo *Pleurotus eryngii*

Microorganismos y medio de cultivo-----	1
Producción de spawn -----	1
Preparación del sustrato-----	1
Fructificación-----	2

7.3 Obtención de lacasas del hongo *Ganoderma lucidum* (proyecto Start up)

Microorganismo y medios de cultivo-----	2
Cultivo de <i>Ganoderma lucidum</i> en medio de agar nutritivo-----	2
Producción de spawn-----	2
Preparación del sustrato-----	2
Fructificación-----	2
Obtención de extractos para determinación de lacasas-----	2

8.1 Trabajos publicados y enviados a publicar en este período-----3

8.2 Cursos realizados----- 3

8.3 Asistencia a Reuniones Científicas-----3

9. Tareas docentes-----3

10. Otros elementos de juicio no contemplados en los títulos anteriores-----4

Anexo

Trabajos publicados o aceptados para su publicación-----	5-8
<i>Currículum vitae</i> -----	9-21
Asistencia Congresos y Reuniones científicas u otras-----	22-47
Proyecto Start up, Proyecto PGI UNS y PICT -----	48-52
Tapa y contratapa Libro en prensa Producción del Champiñón Brasileño-----	53

7. Exposición sintética de la labor desarrollada en el período

7.1 Ureólisis de la cáscara de girasol con distintas dosis de harina de soja y 3 % de urea para su posible uso como sustrato sin decontaminar

Se mezcló la cáscara de girasol con harina de soja (0, 0.25, 0.5, 1 y 1.5 %, trat. 1 a 5) y con 3 % de urea en todos los casos (porcentajes sobre peso seco) con una humedad final del 35 %. Se hizo un control con cáscara hidratada autoclavada con/sin urea.

Se pone 75 g de la mezcla en frascos tapados (n=5) y se incuban hasta 30 días a 24 °C.

Se midió el pH de los distintos tratamientos durante los 7 primeros días y a los 30 días.

Determinación de la actividad ureásica

Se determinó la actividad ureásica de la cáscara de girasol molida, de paja de trigo, de poroto de soja molido y de harina de soja. La determinación se realizó como diferencia entre el pH de la muestra y el pH blanco sin urea. Se incubaron 0.2 g de la muestra molida con 10 ml de solución de urea (15 g urea/50 ml buffer fosfato pH 7) en baño a 30 °C. Posteriormente se midió el pH.

Recuento de colonias de bacterias

Se realizó en los distintos tratamientos luego de 7 y 30 días de ureólisis: (n=3) en medio de agar nutritivo standard selectivo para bacterias: 5 g peptona, 3 g extracto de carne, 15 g de agar, por litro, pH 7.

Se tomaron 2 g de cáscara de cada tratamiento + 15 mL agua estéril (en flujo). Se homogeneizó y se tomó 1 mL de cada una + 9 mL de agua y se hacen diluciones desde 10^{-1} a 10^{-12} .

Determinación de urea y NH_3 - Método enzimático

Se utilizó el método enzimático específico. Se extrajo la cáscara de girasol (2g) con 20 ml de agua, se filtró, se hicieron diluciones y se determinó la urea y el NH_3 por en presencia/ausencia de ureasa en la reacción a 540 nm de longitud de onda de las diluciones con los reactivos que contienen: 1) fenol, nitroferricianuro de sodio y etilén-bis-ditiocarbamato manganoso y 2) hipoclorito de sodio y p-toluén sulfoncloramida en hidróxido de sodio.

7.2. Cultivo del hongo *Pleurotus eryngii*

Microorganismo y medio de cultivo

Se utilizó la cepa P16, proveniente de la Universidad de Guelph, Canadá. El micelio se inoculó en medio MYA (20 g extracto de malta, 2 g de extracto de levadura y 20 g de agar, por litro a pH 6) con el agregado de 10 g de glucosa. Las placas inoculadas se incubaron en oscuridad a 25°C por 10 días y se conservaron a 4 °C hasta su utilización.

Producción de spawn

Se mezcló trigo en grano con CaCO_3 0.1%, CaSO_4 0.8% y agua 40%, en peso. Se esterilizaron botellas de 1L a 15 psi por 1.5 h y se inocularon con el micelio. Estas botellas se incubaron a 25°C por 10-15 días en oscuridad y se agitaron periódicamente.

Preparación del sustrato

El sustrato se preparó para una concentración final de: tratamiento control, 37.5% de cáscara de girasol, girasol/cebada 8/2 o girasol/salvado de trigo 8/2 con el agregado de 2% CaSO_4 , 0.5% CaCO_3 y 60% agua.

Se hicieron bolsas de 500 g; se colocó un tapón de algodón en la región del cuello. Para la fructificación, se removió el tapón, dejando una cámara de aire. Las bolsas se inocularon con un porcentaje de spawn de aproximadamente 6 % bajo flujo laminar. Se incubaron en cámara en oscuridad a 25°C.

Fructificación

Se evaluaron tres alternativas diferentes para inducir la fructificación: shock frío (72 hs) previo a la sala de fructificación a 20 °C, agregado de turba en la superficie expuesta o apertura total de la bolsa por arriba.

7.3 Obtención de lacasas del hongo *Ganoderma lucidum* (proyecto Start up)

Biorreactores y sustrato residual

Microorganismo y medios de cultivo

La cepa usada es *Ganoderma lucidum* E47 proveniente de la Universidad de Guelph, Canadá. Ésta se conservó a 4°C en medio MYGA (10 g glucosa, 2 g extracto de levadura, 20 g extracto de malta, 20 g agar/L, pH 6.0) en glicerol estéril hasta su uso en el mismo medio.

Cultivo de *Ganoderma lucidum* en medio de agar nutritivo

El micelio se inoculó en caja de Petri en un medio MYGA que contenía malta 20 g; extracto de levadura 2 g; glucosa 10 g; agar 20 g y agua destilada hasta un volumen final de 1 L, a pH 6.0.

Producción de spawn

Se mezcló trigo en grano con CaCO₃ 0.1%, CaSO₄ 0.8% y agua 40%, en peso. Se esterilizaron botellas de 1L a 15 psi por 1.5 h y se inocularon con el micelio. Estas botellas se incubaron a 25°C por 10-15 días en oscuridad y se agitaron periódicamente.

Preparación del sustrato

El sustrato se preparó para una concentración final de: tratamiento control, 37.5% de cáscara de girasol/cebada 8/2, 2% CaSO₄, 0.5% CaCO₃ y 60% agua. Se hicieron bolsas de 1 Kg; se colocó un tapón de algodón en la región del cuello. Para la fructificación, se removió el tapón, dejando una cámara de aire. Las bolsas se inocularon con un porcentaje de spawn de aproximadamente 6 % bajo flujo laminar. Se incubaron en cámara en oscuridad a 25°C. También se evaluó la utilización de un sustrato alternativo a base de: paja de arroz cortada, cascarilla de arroz y salvado de arroz.

Fructificación

Cuando el sustrato estuvo completamente colonizado por el micelio, las bolsas se transfirieron al cuarto de fructificación, se removieron los tapones de algodón y se apilaron en forma de pared.

Obtención de extractos para determinación de lacasas

Se evaluaron diferentes estadios del ciclo de producción: colonización completa, formación de exudados y aparición de primordios de hongos. Se tomaron 6 g de sustrato residual con 10 ml de agua y se sometieron a los siguientes tratamientos: picado en agua 0.5, 1 y 2 minutos, sonicación 0.5, 1 y 2 minutos, picado y sonicación 0.5, 1 y 2 minutos, o extracciones con detergente Tween 20 (0.1%), buffer (100 mM acetato de sodio pH 5.0), la mezcla de ambos y picado de 0.5 minutos.

8.1 Trabajos publicados

Figlas, D., González Matute, R., Delmastro, S. and Curvetto, N. 2014. Sunflower seed hull for log system cultivation of *Schizophyllum commune*. *Micologia Aplicada International* 26 (2): 19-25.

Libro en elaboración

Producción de Champiñones *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus bisporus*. Factibilidad de su cultivo.

González Matute, R. Figlas, D., Delmastro, S., Curvetto, N., Pesce, G., De Batista, M. En prensa. Editorial del Colegio de Postgraduados, Fundación Colpos, Méjico.

8.2 Cursos realizados

Jornadas de capacitación en Seguridad. CCT, Bahía Blanca 2015.

8.3 Asistencia a reuniones científicas/tecnológicas o eventos similares

- ◆ Utilización de la cáscara de girasol para el cultivo de *Schizophyllum commune*. XIII Congreso Argentino de Micología. Buenos Aires, 24-27 agosto 2014.
- ◆ Optimización de la Producción del Hongo Medicinal Reishi (*Ganoderma lucidum*) para el Desarrollo de Nutracéuticos y Fitoterápicos. Bidegain M., Postesmsky P., González Matute R., Figlas D., Devalis R., Dalmastro S., Pereyra Huertas C., Curvetto N., Cubitto MA. V Jornada RedVITEC (CIN) Córdoba, 20-21 noviembre 2014.
- ◆ Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales del Arroz Para el Cultivo del Hongo Medicinal *Ganoderma lucidum*. Postesmsky P., Bidegain M., Devalis R., Figlas D., González Matute R., Delmastro S., Curvetto N., Cubitto M.A. RedVITEC (CIN) Córdoba, 20-21 noviembre 2014.

9. Tareas docentes

Cursos de capacitación para productores y asesoramiento en los protocolos de cultivo y producción de hongos sobre diferentes sustratos.

10. Otros elementos de juicio no contemplados en los títulos anteriores

- Participación en el Proyecto: "Producción y comercialización del hongo Reishi (*Ganoderma lucidum*)" PICT2010 Bicentenario-0271. Categoría Start up tercer año.
- Participación en el Proyecto: "Biotransformación de la cáscara de girasol para su uso como biofertilizante en la producción intensiva de hortalizas". 2014. PGI UNS. Programa de Medio Ambiente y Desarrollo Sustentable UNS.
- Participación en el Proyecto: "Fermentación en estado sólido de residuos de la agroindustria del arroz empleando hongos comestibles y medicinales. PICT 2014.
- Codirección de tesinas para optar a la Licenciatura en Ciencias Biológicas
- Participación en la II JORNADA DE PUERTAS ABIERTAS EN EL CONICET BAHIA BLANCA. 28 de junio 2015.
- Revisión de manuscritos en revistas internacionales: Journal of Medicinal Food y Journal of Cell and Animal Biology.
- Difusión de la investigación desarrollada en programas de radio y televisión y en prensa escrita.

Servicios a terceros

- Provisión de cepas y blanco de hongos a pequeños productores.
- Provisión de troncos artificiales inoculados con diversas cepas de hongos.
- Asesoramiento a productores de la zona.
- Evaluación de sustratos alternativos para el cultivo de hongos comestibles.

ANEXO

