



INFORME PERIODO 2011-2012

1. APELLIDO: Gortari

Nombre(s): María Cecilia

Título(s): Bact. Clínica e Industrial

Dirección Electrónica: gortari@biotec.org.ar

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría Profesional Asistente

Mes: Noviembre

Año: 1998

ACTUAL: Categoría Profesional Adjunto

Mes: Febrero

Año: 2006

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

- a) Hongos autóctonos de posible interés económico: aislamiento, identificación, caracterización molecular y su potencial como productores de enzimas con implicancias biotecnológicas (PIP 112-200801-01422) del CONICET. Director: Dra. Angélica Arambarri. Co-director: Dr. Roque A. Hours.
- b) Enzimas, microorganismos y procesos de interés biotecnológico. Acreditado y financiado por la SeCyT de la UNLP, código 11/X522. Años 2009-2012. Director: Dr. Roque Hours.

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): Hours, Roque Alberto

Cargo Institución: Investigador Independiente (CONICET). Vice-director, CINDEFI

Dirección: Calle 50 y 115

Nº

Ciudad: La Plata

C.P: (1900)

Prov: Bs As Tel.: 483-3794, int 112

Dirección Electrónica: hours@biotec.org.ar

5. LUGAR DE TRABAJO Institución: Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales. Dependencia: Facultad de Ciencias Exactas (UNLP-CONICET)

Dirección: Calle 50 y 115

Nº

Ciudad: La Plata.

C.P.: (1900) .Prov.: Bs. As

Tel. 483-3794

6. INSTITUCION DONDE DESARROLLA TAREAS DOCENTES U OTRAS

Nombre: Departamento de Epizootiología y Salud Pública

Dependencia: Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.

Dirección: Calle 60 y 118

Nº: S/N

Ciudad: La Plata C. P.: (1900).....Prov.: Bs. As.Tel.: 423-6663/4 int. 403

Cargo que ocupa: Jefe de Trabajos Prácticos Ordinario (Dedicación Simple).

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

- a) El informe debe contener los títulos y subtítulos completos que se detallan en hojas adjuntas y un índice
- b) 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.
- c) El informe se deberá presentar impreso en hojas perforadas A-4 y en disquete, formato RTF, protegido contra escritura, configurado para papel A4 y libre de virus. En la etiqueta de mismo se consignará el apellido y nombre del Personal de Apoyo y la leyenda «Informe Científico-tecnológico período. . . .
- d) Incluir en la presentación del informe (en sobre cerrado) la opinión del Director.

INDICE	Página
7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO	5
8. OTRAS ACTIVIDADES	8
8.1. Publicaciones. Comunicaciones	
8.2. Cursos de perfeccionamiento, viajes de estudio	
8.3. Asistencia a Reuniones científicas/tecnológicas o eventos similares	9
9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO	9
10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES	

7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

- **Cultivos de *Paecilomyces lilacinus***

Los inóculos se prepararon a partir de cultivos de *P. lilacinus* en Erlenmeyer sobre agar papa glucosado incubados a 28-30°C durante 7-10 días (superficie totalmente cubierta de esporos). Los esporos se obtuvieron con el agregado de una suspensión de Tween-80 (0,1%). El número de esporos se determinó por recuento en cámara de Neubauer y la suspensión fue ajustada a 1×10^7 esporos/ml.

Se realizaron cultivos de *P. lilacinus* en medio líquido con la siguiente composición: K_2HPO_4 4,56 g/l, KH_2PO_4 2,77 g/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g/l, KCl 0,5 g/l y el agregado de 1% de escamas de quitina (< 0,5 mm, malla 35). El medio se distribuyó en frascos Erlenmeyer (hasta un 25% del volumen total). Los cultivos inoculados fueron incubados en agitación a 28-30 °C. Se tomaron muestras cada 24 h para determinar el momento de máxima actividad quitinolítica. Los sucesivos cultivos se incubaron a la misma temperatura durante 7 días. En todos los casos las muestras de los extractos crudos se conservaron a -20° C hasta su utilización. Algunos medios fueron inoculados con *P. lilacinus* aislado mediante la técnica de "baiting" con escamas de quitina comercial a partir de muestras de suelo suministradas por IPAF-INTA de un establecimiento hortícola (Parque Pereyra Iraola) infestado por fitonematodos y bajo experiencia de biofumigación con crucíferas. El hongo fue identificado por las características macro (colonia gigante) y microscópicamente (microcultivos).

- **Determinación de biomasa fúngica, contenido de proteína, actividad proteínolítica y quitinolítica**

Las determinaciones indicadas se realizaron siguiendo las técnicas descriptas en informes anteriores.

- **Determinación de la temperatura óptima y estabilidad térmica de las enzimas quitinolíticas**

Ensayo enzimático: se prepararon 30 tubos con 20 mg de quitina (< 0,29 mm, malla 50), 1,8 ml de sol. buffer acetato de sodio (50 mM, pH = 5,5) y 200 µl de extracto crudo de cultivo en medio líquido de *P. lilacinus* (7 días a 28-30 °C). Los controles se obtuvieron inactivando la enzima en ebullición durante 10 min. Ocho tubos con la mezcla de reacción fueron incubados en baño de agua a 28, 37, 45, 50 y 60 °C respectivamente. La reacción fue finalizada por enfriamiento rápido en baño de hielo y posterior filtración a 3 y 6 h de incubación. La determinación de azúcares reductores fue realizada por la técnica de Somogyi-Nelson. Los resultados obtenidos demostraron que la máxima actividad fue a los 37°C.

En paralelo, por cada temperatura, se incubaron 6 Eppendorf con 1 ml de extracto crudo, se tomó 1 ml por hora durante 6 h y se conservaron a -20°C hasta su procesamiento.

Por cada temperatura y tiempo se evaluó la actividad enzimática residual incubando a 37°C durante 6 h por la técnica de Somogyi-Nelson.

- **Preparación de muestras para la identificación y cuantificación de N-acetilglucosamina (GlcNAc) como producto de la reacción enzimática por cromatografía de alta resolución (HPLC).**

Ensayo enzimático: se prepararon 40 tubos con 20 mg de quitina (< 0,29 mm, malla 50), 1,8 ml de sol. buffer acetato de sodio (50 mM, pH = 5,5) y 200 µl de extracto crudo. Los controles se obtuvieron inactivando la enzima en ebullición durante 10 min. Los tubos con la mezcla de reacción fueron incubados en baño de agua con agitación a 28°C. Se tomaron muestras diariamente. La reacción fue finalizada por enfriamiento rápido en baño de hielo y posterior filtración. El filtrado resultante fue utilizado para:

a) Determinar azúcares reductores por la técnica de Somogyi-Nelson.

b) Para procesar por HPLC. A 200 μ l del filtrado se le agregaron 800 μ l de alcohol frío en agitación para precipitar proteínas. La mezcla fue dejada en el freezer durante la noche. Se centrifugó a 5.000 rpm durante 20 min. Se tomaron 700 μ l del sobrenadante y se filtraron por filtros 0,22 μ m. Por ensayos previos se decidió utilizar como patrón suspensiones de GlcNAc de 1 mg/ml y 2 mg/ml, respectivamente. Se tomaron 100 μ l de cada uno y fueron procesados de igual modo que las muestras. El volumen de inyección fue de 20 μ l y el tiempo de corrida de 20 min. Se pudo determinar la presencia de GlcNAc en las dos primeras muestras (48 h), pero no se pudo continuar la determinación a tiempos mayores de incubación debido al desarrollo de contaminación microbiana. Se repitió la experiencia partiendo de una mezcla de reacción con quitina y buffer estéril pero nuevamente hubo problemas de contaminación. En próximas experiencias se ajustaran las condiciones de esterilidad y además de añadirán muestras de cultivos líquidos de *P. lilacinus*.

- **Producción de esporos de *P. lilacinus* para su uso en ensayos a campo.**

Se prepararon 8 frascos conteniendo el siguiente medio: 50 g de granos de arroz entero, 3 g de CaCO₃ y 60 ml de agua destilada (Stephan and Al-Din., 1987). En la mitad de los frascos los granos de arroz fueron expuestos a 12 h de remojo previo y posterior secado con papel de filtro. Los medios fueron esterilizados en autoclave durante 40 min. Se observó la precipitación del CaCO₃ que derivó en la compactación de los granos de arroz. De todos modos, los frascos fueron inoculados con 1 ml de suspensión de esporos de *P. lilacinus* ($4,5 \times 10^8$ esporos/ml) preparada a partir de un cultivo en agar papa glucosado durante 7-10 días y cultivados a 28-30 °C. Se observó el crecimiento del hongo sobre los granos de arroz. A la semana de incubación se estimó la producción de esporos por frasco tomando un grano de arroz y colocándolo en un tubo con 10 ml de agua destilada con Tween 80 al 0,1%. Después de homogeneizar en un agitador se realizó el recuento de esporos en cámara de Neubauer obteniéndose un rango de valores que van desde $3,5 \times 10^7$ a $7,75 \times 10^7$ en los diferentes frascos. La viabilidad se verificó sembrando un grano de arroz por frasco en placas de agar papa glucosado. Como alternativa se utilizó el medio sin CaCO₃: 4 Erlenmeyer de 500 ml conteniendo 50 g de granos de arroz entero sin remojar y 60 ml de agua, esterilizados en autoclave durante 40 min, e inoculados con una suspensión de esporas con una concentración de 1×10^6 esporos/g de materia seca según Dorta y Arcas (1998). Los cultivos fueron incubados a 28-30 °C durante 14 días.

Estos cultivos serán utilizados en 4 parcelas de una unidad experimental en un establecimiento hortícola como parte de un ensayo comparativo de varios tratamientos en el que se evaluará el efecto sobre la población de fitonematodos.

- **Procesamiento de muestras de tierra:**

- a) ensayo preliminar a campo**

Se tomaron muestras de suelo en un establecimiento hortícola infestado con fitonematodos y se conservaron a 4 °C hasta su procesamiento. Previa homogenización, se tomaron 100 cm³ de muestra para ser procesada por el método de Baermann. Cada muestra, envuelta en una tela filtrante, se colocó sobre un tamiz. El tamiz se dejó reposar durante 24-48 h sobre un embudo (con una manguera de goma en el pico y cerrado con una pinza de Mohr) conteniendo agua hasta un nivel tal que contacte con la muestra de suelo. El filtrado resultante se observó bajo microscopio estereoscópico Leica EZ5 (10x-50x). Se determinó la presencia de fitonematodos del género *Meloidogyne* sp.

- b) Recuperación del sistema huésped (mantenimiento y reproducción de nematodos fitoparásitos).**

Como consecuencia de la pérdida del invernáculo se perdió la población de plantas de tomate parasitadas. Para reiniciar el sistema huésped se procesaron muestras de raíces agalladas (lechuga y zapallo) provenientes de quintas hortícolas de la zona. Las raíces fueron observadas bajo microscopio estereoscópico Leica EZ5 (10x-50x). Se determinó la

presencia de masas de huevos y de hembras maduras de *Nacobbus aberrans* en raíces de zapallo. Las muestras fueron utilizadas para la siembra de plántulas (25/30 días) de tomate platense pre-germinadas en macetas con suelo estéril (junio de 2012). Al momento no se evaluó la presencia de agallas y, por lo tanto, no se hicieron transferencias de fitoparásitos.

Referencias

- Dorta, B.; Arcas, J. (1998). Sporulation of *Metarhizium anisopliae* in solid-state fermentation with forced aeration. *Enzyme and Microbial Technology* 23: 501-505.
- Jatala, P. (1982). Control biológico con el hongo *Paecilomyces lilacinus*. Proceedings of the Third Research & Planning Conference on Root-Knot Nematodes *Meloidogyne* spp. Pg 209-218.
- Stephan, Z.A.; Al-Din, S.S. (1987). Influence of temperature and culture media on the growth of the fungus *Paecilomyces lilacinus*. *Revue Nematol.* 10(4): 494

OTRAS ACTIVIDADES

8.1. Publicaciones. Comunicaciones

Publicaciones

Evaluation of increase of the production of keratinolytic enzymes.

Betina Galarza, Ivana Cabello, Laura Garro, Cecilia Gortari, Roque Hours, Carlos Cantera (2012).
Journal of AQEIC, vol. 63, N°3, 70-74

En proceso de corrección:

Optimization of assay parameters for the detection and quantification of chitinase activity of *Paecilomyces lilacinus*.

Gortari, M.C., Galarza, B., Cavello, I., Hours, R.

Biotechnological process for chitin recovery out of crustacean wastes.

Gortari, M.C., Hours, R., et al.

Presentaciones a Congresos

XXXI Congress of the International Union of Leather Technologists & Chemists Societies.

Evaluation of increase at the production of keratinolytics enzymes.

Betina Galarza, Ivana Cavello, Laura Garro, Cecilia Gortari, Roque Hours, Carlos Cantera
27-30 septiembre 2011, Valencia, España.

Enviados y aceptados:

EnReBB 2012. V Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones.

- Biotransformación de escamas de quitina por *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson LPSC # 876
Gortari, C.; Galarza, B.; Hours, R.
- Producción de enzimas queratinolíticas utilizando un residuo sólido de curtiembre.
Galarza, B.; Gortari, C.; Cantera, C.

XVIII Congreso de la Federación Latinoamericana de Químicos y Técnicos de la Industria del Cueros.

- Enzimas fúngicas: determinación de parámetros de crecimiento en cultivos sumergidos.
Galarza, B.; Garro, M.L.; Gortari, C.; Bonfranceschi, A.; Hours, R.; Cantera, C.

IV Congreso Nacional y III Internacional de Enseñanza de las Ciencias Agropecuarias.

- Relato de una experiencia: la prensa escrita en la educación en salud pública veterinaria.
Gortari, M.C.; Rodríguez Mendoza, N.; Zubíri, K.; Bonzo, E.

8.2. Cursos de perfeccionamiento, viajes de estudio, etc.

8.3. Asistencia a reuniones científicas/tecnológicas o eventos similares

- Jornadas de Debate sobre Políticas Universitarias 2011 “Pensar la Universidad” en Formación de pregrado, Grado y Posgrado. UNLP.
6-7 de octubre de 2011, Biblioteca pública de la Universidad Nacional de La Plata.
- II Simposio Argentino de Procesos Biotecnológicos. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.
10-11 de mayo de 2012, La Plata.
- I Jornadas Nacionales de Tomate Fresco.
15-17 de mayo de 2012. Gorina, La Plata.
- Segundas Jornadas de la Agricultura Familiar.
11-12 de agosto. Fac. Ciencias Veterinarias, UNLP.

9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Cargo: JTP dedicación simple. Dto. Epizootiología y Salud Pública. Fac. Cs. Veterinarias, UNLP.
Docente afectada a los cursos de:

- Bioestadística: (Primer cuatrimestre de primer año)
APO: 5 h/semana
Horario atención alumnos: 1 h/semana
Evaluaciones: Corrección exámenes parciales y EFI (Examen final integrador).
- Epidemiología Básica y Salud Pública (Segundo cuatrimestre de segundo año)
APO: 2,5 h/semana
Horario atención alumnos: 1 h/semana
Evaluaciones: Corrección exámenes parciales y EFI (Examen final integrador).
- Dictado del Curso de Ingreso de la Carrera de Médico Veterinario 2012.
1/2/2012 a 2/3/2012. Expediente N° 600-007041/11

Especialización en docencia universitaria

Finalización Plan de estudios

Proyecto de trabajo final: Propuesta de Intervención académica en el área de Salud Pública para la Carrera de Ciencias Veterinarias:

Curso optativo: (Re)-pensar los procesos de salud-enfermedad a partir de recursos y estrategias no convencionales.

Director propuesto: Dra. Mariana Sanmartino

10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES.