

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2015-2016

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Morelli

NOMBRES: Irma Susana

Dirección Particular: Calle:

Localidad: La Plata CP: 1900

*Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):
guri@biol.unlp.edu.ar*

2. TEMA DE INVESTIGACION

Biorremediación de suelos contaminados con Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos

PALABRAS CLAVE (HASTA 3) Biodegradación Biotecnología Ambiental
Ecología Microbiana

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Independiente Fecha: 01/01/2011

ACTUAL: Categoría: Independiente desde fecha: 01/01/2011

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

*Universidad y/o Centro: Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones
Industriales (CINDEFI)*

Facultad: Facultad de Ciencias Exactas- UNLP

Departamento:

Cátedra:

Otros:

Dirección: Calle: 50 N°: 227

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 0221-4833794

Cargo que ocupa: Investigador

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

Apellido y Nombres:

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica:

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

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-206, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.

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

.....
Firma del Investigador

6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos constituyen un tema de interés ambiental debido a sus propiedades tóxicas y carcinogénicas. La provincia de Buenos Aires representa un claro ejemplo de ambiente sometido a una intensa carga de contaminación, debido al establecimiento de varios polos petroquímicos en puntos críticos del territorio provincial y a la alta densidad poblacional ubicada en sus cercanías. El proyecto tiene como objetivo general contribuir al desarrollo de herramientas biocorrectivas de bajo costo y ambientalmente aceptables, que permitan recuperar los suelos contaminados y degradados por años, así como el tratamiento de residuos con alto contenido de hidrocarburos, constituyendo un desafío para garantizar la preservación del ambiente, la protección de los recursos naturales, la calidad de vida de la población y el equilibrio de los ecosistemas. Así como contribuir al mejoramiento de los conocimientos básicos relacionados con la ecología microbiana de los procesos de biorremediación de suelos contaminados con PAH; y aportar al desarrollo de estrategias ómicas como herramientas metodológicas que permitan caracterizar la diversidad funcional de la comunidad microbiana del suelo.

Palabras Claves: PAH- Biorremediación-Suelo-Comunidades Microbianas-Biodegradación

7. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

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

Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos.

Responsable de la coordinación, planificación y dirección de las actividades de investigación relacionadas con los proyectos: "Biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos: una visión molecular", "Optimización de procesos de biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos y evaluación del grado de restauración de la funcionalidad del suelo alcanzado" y "Evaluación de alternativas de biotratamiento de residuos con alto contenido de hidrocarburos". Discusión de resultados, redacción de trabajos e informes y divulgación de resultados. Se presenta un resumen de los principales resultados.

1. Biorremediación de suelos contaminados con PAH: una visión molecular.

Se incursionó en la utilización de las nuevas técnicas de secuenciación masiva para determinar la estructura y diversidad de un consorcio degradador de fenantreno, obtenido en nuestro laboratorio a partir de un suelo crónicamente contaminado con hidrocarburos. Pudimos determinar que la diversidad del consorcio es mucho mayor a la encontrada por las técnicas cultivables, los que nos permitió diseñar estrategias dirigidas específicamente para aislar y cultivar los microorganismos evidenciados a través de pirosecuenciación del gen 16S rRNA y estudiar sus capacidades degradadoras. A través de la realización de estrategias de metagenómica funcional pudimos determinar la presencia en el consorcio de genes de la vía de degradación de PAH afiliados con el orden Burkholderiales, si bien se había encontrado en el consorcio un porcentaje significativo de secuencias del gen 16rRNA pertenecientes a este orden no fue posible cultivarlo a partir del consorcio.

Se realizó la secuenciación y ensamble parcial de los genomas de los microorganismos presentes en el consorcio y de otras cepas degradadoras aisladas en nuestro grupo de trabajo, en los cuales se identificaron in silico genes codificantes relacionados con las vías de degradación de PAH.

Se incursionó en la utilización de proteogenómica con el fin de estudiar la ruta de degradación de PAH y sus procesos regulatorios en una de las cepas aisladas en nuestro laboratorio. Sobre la base de datos genómicos y proteómicos, se identificaron las enzimas necesarias para la construcción de una vía completa de la degradación de fenantreno en la cepa *S. paucimobilis* 20006FA y un marco útil para la comprensión de los procesos celulares implicados en la degradación de los PAH.

Se utilizaron además herramientas metaproteómicas con el fin de dilucidar la relación funcional entre los distintos miembros del consorcio degradador antes caracterizado. La fracción soluble de proteínas del consorcio creciendo en fenantreno como única fuente de carbono y energía fue analizada por 2-DE a distintos tiempos. Del análisis de los geles se seleccionaron los spots que mostraron mayor discrepancia en la expresión y se analizaron por MALDI TOF/TOF MS/MS para su identificación. De las proteínas identificadas, el 66,67% perteneció a la familia Sphingomonadaceae y el 33,33% a la familia Burkholderiaceae. A través del enfoque metaproteómico utilizado se confirmó la importancia funcional, dentro de CON, de las poblaciones pertenecientes al orden Burkholderiales.

Se estudió en microcosmos de suelo el impacto de la inoculación de cepas aisladas y consorcios microbianos sobre la eliminación de PAH y la estructura y composición de la comunidad microbiana de un suelo recientemente contaminado con un PAH y de suelos crónicamente contaminados con una mezcla compleja de PAH. Se determinó que la inoculación sólo logró incrementar la degradación de fenantreno en suelos recientemente contaminados, a pesar de que los cambios en la estructura de la comunidad determinados por pirosecuenciación del gen 16S rRNA demostraron el establecimiento del inoculante en ambas condiciones. Se comprobó que el establecimiento de un inoculante en el suelo no necesariamente se correlaciona con el aumento de las capacidades catabólicas deseadas, en nuestro caso la degradación de PAH, debido a que se pudo haber establecido en función de otros recursos.

Se determinó que la inoculación tanto de cepas puras como consorcios microbianos, produjo un aumento significativo en la diversidad de la comunidad bacteriana de los suelos contaminados con PAH, independientemente de la historia de la contaminación. Esto además de constituir un avance en el estudio de los principios generales que gobiernan los procesos de invasión/inoculación, tiene una importante aplicación práctica. La inoculación de cepas o consorcios bacterianos degradadores podría tener un doble efecto benéfico, acelerar los procesos de degradación y recuperar la diversidad de los suelos impactados, lo que redundaría en una mayor estabilidad y una respuesta mejor frente a nuevas condiciones de estrés.

Parte de estos resultados han sido publicados en tres artículos publicados en revistas internacionales, uno en una revista internacional, una Tesis Doctoral y dos manuscritos en redacción y 7 presentaciones a Congresos Nacionales e Internacionales.

2. Optimización de procesos de biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos y evaluación del grado de restauración de la funcionalidad del suelo alcanzado.

Se aplicaron distintas estrategias de biorremediación a suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos: bioestimulación, bioaumento, procesos de oxidación química acoplados a biorremediación, compostaje, agregado de surfactante.

Se evaluó el efecto de las distintas estrategias propuestas sobre la eliminación del contaminante. Si bien el agregado de surfactante logró un ligero aumento en la velocidad de degradación de los hidrocarburos, la oxidación con persulfato (PS) acoplada a compostaje fue la estrategia que logró la mayor remoción de hidrocarburos.

El estudio de la diversidad bacteriana a nivel molecular, analizada a través de pirosecuenciación de amplicones del gen 16S rRNA, nos permitió determinar que todas las estrategias provocaron un efecto positivo sobre la recuperación de la diversidad de la comunidad microbiana del suelo, este efecto no se tradujo en todos los casos en un incremento en la eliminación de los hidrocarburos. En el caso de los suelos crónicamente contaminados, la presencia de metabolitos intermediarios podría actuar como fuerza motriz de los cambios en la comunidad en respuesta a las distintas estrategias de biorremediación.

El análisis de las matrices de excitación emisión (MEEF) obtenidas a partir de los espectros de fluorescencia permitieron obtener información sobre el efecto de las distintas estrategias sobre la materia orgánica del suelo, confirmando que tanto el agregado de surfactante como los tratamientos de oxidación-biorremediación, produjeron cambios en la materia orgánica del suelo, más allá de la degradación de los contaminantes.

Las estrategias de oxidación seguida de compostaje permitieron la recuperación global del sistema, recuperando la funcionalidad en términos de eliminación de hidrocarburos, ciclo del nitrógeno y metabolismo de fósforo.

Se determinó que la historia previa del suelo contaminado es un factor determinante de su capacidad de respuesta al estrés. Se evaluó la estabilidad al estrés oxidativo de un suelo crónicamente contaminado, observándose la recuperación de la diversidad microbiana (resiliencia).

Parte de estos resultados han sido publicados en dos artículos en revistas internacionales y 2 presentaciones a Congresos Nacionales e Internacionales.

Los proyectos antes descriptos tuvieron como objetivo general contribuir al desarrollo de herramientas biocorrectivas alternativas de bajo costo y ambientalmente aceptables, que permitan recuperar los suelos de la Provincia de Buenos Aires, que han sufrido contaminación debido al establecimiento de varios polos petroquímicos en su territorio; constituyendo un desafío para garantizar la preservación del ambiente, la protección de los recursos naturales, la calidad de vida de la población, la conservación de la biodiversidad y el equilibrio de los ecosistemas.

3. Evaluación de alternativas de biotratamiento de residuos con alto contenido de hidrocarburos.

El proyecto se realizó en colaboración con el grupo de Suelo de la Universidad Nacional del Comahue, Sede Regional Bariloche. Se evaluó la tratabilidad de recortes de perforación base oleosa mediante la estrategia de biorremediación por compostaje. Se realizó un ensayo en reactores aislados térmicamente donde se compostaron, durante 151 días, recortes base oleosa (RBO) y residuos orgánicos de cocina y jardín triturados (RO), utilizando chips de madera como agente estructurante. Se realizaron distintas mezclas con distintas concentraciones de RO (0, 33, 75 y 100%).

La enmienda con 75% de RO proveyó proporciones adecuadas de carbono y nitrógeno disponibles, microorganismos en cantidad y diversidad, redujo la toxicidad inicial del residuo, y mejoró la disponibilidad de agua y oxígeno; resultando altamente eficaz en la remoción de todos los tipos de hidrocarburos, incluyendo PAH de elevado peso molecular, usualmente muy recalcitrantes. Concentraciones menores de RO no resultaron efectivas.

Los resultados obtenidos alientan a considerar la viabilidad de estrategias que involucren la aplicación de estos residuos orgánicos, o de enmiendas producidas a partir de los mismos, como alternativa para el tratamiento, reuso o disposición de recortes de perforación base acuosa y base oleosa. Además, estas estrategias pueden contribuir en el reciclado y valorización de residuos orgánicos, y posibilitan el tratamiento simultáneo de más de una corriente de los desechos.

Estos resultados han sido publicados en un artículo publicado en una revista internacional

8. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

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

Revistas con Referato

1. Pessacq J., Medina R., Terada C., Bianchini F.E, Morelli I.S. and Del Panno M.T. "Assessment of the responsiveness to different stresses of the microbial community from long-term hydrocarbons contaminated soils". *Water, Air & Soil Pollution*. 226:20. 2015.

Abstract

Soils exposed to long-term contamination with hydrocarbons may present extreme challenges to maintain the biological resilience to the stress. To elucidate the relationships between the initial event of contamination and the responsiveness to the stress, we investigated the extent of the microbial resilience of biological functions from two contaminated soils sampled from a petrochemical area (S1, underwent diffuse hydrocarbon contamination, and S2, from a land farming unit where an alkaline petrochemical sludge was treated) after the Cd, saline, and acid stresses. Both contaminated soils were characterized by low organic matter content compared with a pristine soil. Although similar Shannon diversity index and heterotrophic bacterial count were observed, different bacterial community structures (PCR-DGGE) and less enzymatic activities characterized the contaminated soils. Particularly, functional diversity determined by Biolog EcoPlates™ was not detected in S2 soil. Only the S1 soil showed resilience of the enzymatic activities and functional diversity, suggesting the presence of a well-adapted microbial community able to face with the stresses. The S2 was the most disturbed and less responsive soil. However, an increase in the functional diversity was evidenced after acidification, and it is possible to correlate this responsiveness with the sludge properties treated in the land farming unit. In addition, if the selected stress can reverse the soil condition provoked for the first disturbance, responsiveness could be expected.

Participación en la planificación y dirección de los trabajos experimentales relacionados con el estudio a través de métodos moleculares de comunidades microbianas de suelo.

2. Madueño L., Álvarez H.M and Morelli I.S. "Autochthonous Bioaugmentation to Enhance Phenanthrene Degradation in Soil Microcosms under Arid Conditions". *International Journal of Environmental Science and Technology*. 12:2317-2326. 2015.

Abstract

The aim of this work was to investigate the effect of autochthonous bioaugmentation (ABA) in phenanthrene-contaminated Patagonian soil microcosms, maintained under arid conditions, on phenanthrene elimination and soil microbial community. The polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading strain *Sphingobium* sp. 22B previously isolated from the Patagonian soil and selected by its resistance to drying conditions was used as inoculant. The phenanthrene concentration, dehydrogenase activity and denaturing gradient electrophoresis of 16S rRNA gene were monitored during 230 days. The results showed that when the microcosms were maintained at 20 % of soil water-holding capacity (WHC), the phenanthrene biodegradation was drastically inhibited and changes in the genetic diversity of soil microbial community were not detected, and neither the ABA nor the biostimulation managed to overcome the inhibitory effects. When the moisture was slightly increased, reached 25 % WHC, the ABA showed a significant initial stimulatory effect on phenanthrene biodegradation, demonstrating the potential of ABA in PAH bioremediation process in semiarid Patagonia.

Planificación y dirección de los trabajos experimentales y redacción del manuscrito.

3. Morelli I.S., Coppotelli B.M., Madueño L. y Del Panno M.T, “La biorremediación en la era post-genómica” Perspectiva. Revista QuímicaViva, 14:26-34. 2015.

Abstract

La biorremediación tiene hoy en día gran aceptación como una estrategia efectiva para la recuperación de suelos contaminados, sin embargo la falta de información sobre los factores que rigen el funcionamiento metabólico de las comunidades microbianas en los ambientes contaminados hace que, aún en la actualidad, los procesos de biorremediación tengan resultados impredecibles. Las técnicas moleculares basadas en el estudio del DNA, han permitido la identificación de numerosos genes catabólicos abriendo nuevas oportunidades en el desarrollo de los procesos de biorremediación. En esta nueva era post-genómica, las emergentes metatranscriptómica, metaproteómica y metabolómica resultan promesas notables como herramientas para estudiar los mecanismos implicados en la regulación de las vías de degradación, lo que en un futuro nos permitirá desarrollar modelos predictivos sobre la actividad degradadora de la comunidad microbiana del suelo en función de los distintos parámetros bióticos y abióticos, y establecer criterios específicos y claros sobre la elección y evaluación de las estrategias de biorremediación.

Planificación, búsqueda bibliográfica y coordinación de la redacción del manuscrito.

4. Cecotti M., Morelli I.S. y Coppotelli B.M. “Estudio metabólico y molecular de cultivos bacterianos degradadores de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) y resistentes a metales pesados”. Revista QuímicaViva, 14: 56-67. 2015.

Abstract

La contaminación mixta con PAH y metales pesados conlleva dificultades debido a la potencial toxicidad del metal, limitando la supervivencia solo a los microorganismos que toleren ambos contaminantes. El estudio de cepas degradadoras de PAH y resistentes a metales pesados promete proporcionar herramientas claves para el proceso de biorremediación. Este trabajo tuvo como objetivos la selección, identificación y caracterización de cepas degradadoras de PAH y resistentes a metales pesados aisladas a partir de suelos proveniente de la Antártida y de zonas aledañas a la ciudad de La Plata. La identificación a nivel molecular mostró que las cepas antárticas A, B y C, filogenéticamente relacionadas al género *Pseudomonas*, presentaron alta resistencia al CdCl₂ (CIMs de 500 µg/ml) en caldo R3. Las cepas A y C mostraron porcentajes de degradación de fenantreno por encima del 40 %, mientras que B no superó el 25 %, en todos los casos se

observó la acumulación del intermediario ácido 1-hidroxi-2-naftoico. Las tres cepas fueron capaces de degradar fenantreno en presencia de 100 µg/ml de CdCl₂. Las cepas bacterianas estudiadas podrían cumplir un importante rol frente a contaminaciones mixtas de fenantreno y metales como Cd⁺², usualmente presentes en suelos co-contaminados.

Participación en la planificación y dirección de los trabajos experimentales y corrección del manuscrito.

5. Festa S., Coppotelli B.M. and Morelli I.S. "Comparative bioaugmentation with a consortium and a single strain in a phenanthrene-contaminated soil: impact on the bacterial community and biodegradation". *Applied Soil Ecology*. 98:8-19. 2016.

Abstract

The efficiency of two inoculation strategies, using a consortium (CON) or an isolated strain (AM), on phenanthrene-contaminated soil was determined with special concern on the study of the bacterial community composition by PCR-DGGE and pyrosequencing of 16S rRNA gene fragments. Both strategies stimulated the phenanthrene degradation, increasing the cultivable heterotrophic bacteria number and biological activity. At the end of the treatments, the microcosms inoculated with AM reached the lowest values of phenanthrene but also the lowest dehydrogenase activity. In DGGE patterns a reduction in number of bands in the contaminated and inoculated microcosms was observed, being the most significant differences attributed to inoculation with AM. The pyrosequencing technique yielded results that correlated with the fingerprint, showing that the bacterial community composition based on relative abundance was significantly modified by treatments. Sphingomonadales and Burkholderiales were highly stimulated by phenanthrene contamination and inoculation. In the Phe microcosm, the higher increase in Actinomycetales (mainly *Arthrobacter*) was observed. Effectively, the use of the strain AM as inoculant became the best strategy to remediate the soil mainly based on the degradation efficiency, however it caused more drastic changes in microbial community than inoculation with CON, what can be compromising the ulterior functionality of the soil.

Planificación y dirección de los trabajos experimentales y planificación y corrección del manuscrito.

6. Madueño L., Macchi M., Morelli I.S. and Coppotelli B.M. "Draft whole-genome sequence of *Sphingobium* sp. 22B, PAH-degrading bacteria from semi-arid Patagonia, Argentina". *Genome Announcements*. 4(3):e00488-16. 2016.

Abstract

Sphingobium sp. 22B is a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading strain isolated from Patagonia, Argentina, with capabilities to withstand the environmental factors of that semiarid region. The draft genome shows the presence of genes related with responses to carbon starvation and drying environmental conditions.

Participación en la planificación y dirección de los trabajos experimentales y corrección del manuscrito.

7. Festa S., Macchi M., Cortés F., Morelli I.S. and Coppotelli B.M. "Monitoring the impact of bioaugmentation with a PAH-degrading strain on different soil microbiomes using pyrosequencing". *FEMS Microbiology Ecology*. 92(8), fiw125. 2016.

Abstract

The effect of bioaugmentation with *Sphingobium* sp. AM strain on different soils microbiomes, pristine soil (PS), chronically contaminated soil (IPK) and recently contaminated soil (Phe) and their implications in bioremediation efficiency was studied by focusing on the ecology that drives bacterial communities in response to

inoculation. AM strain draft genome codifies genes for metabolism of aromatic and aliphatic hydrocarbons. In Phe, the inoculation improved the elimination of phenanthrene during the whole treatment, whereas in IPK no improvement of degradation of any PAH was observed. Through the pyrosequencing analysis, we observed that inoculation managed to increase the richness and diversity in both contaminated microbiomes, therefore, independently of PAH degradation improvement, we observed clues of inoculant establishment, suggesting it may use other resources to survive. On the other hand, the inoculation did not influence the bacterial community of PS. On both contaminated microbiomes, incubation conditions produced a sharp increase on Actinomycetales and Sphingomonadales orders, while inoculation caused a relative decline of Actinomycetales. Inoculation of most diverse microbiomes, PS and Phe, produced a coupled increase of Sphingomonadales, Burkholderiales and Rhizobiales orders, although it may exist a synergy between those genera; our results suggest that this would not be directly related to PAH degradation.

Planificación y dirección de los trabajos experimentales y colaboración en la redacción del manuscrito.

8. Paladino G., Arrigoni J.P., Satti P., Morelli I.S., Mora V.C. and Laos F. "Bioremediation of heavily hydrocarbon-contaminated drilling wastes by composting". International Journal of Environmental Science and Technology. 13:2227-2238. 2016.

Abstract

Oil-based drilling cuttings comprise a large and hazardous waste stream generated by oil and gas wells drilling operations. Oil-based cuttings are muddy materials with high contents of salts and hydrocarbons. Composting strategies have shown to be effective in the biodegradation of petroleum hydrocarbons, and it offers numerous advantages in comparison with other bioremediation methods. In order to assess the effectiveness of drilling cuttings bioremediation by composting with food and garden wastes, an experiment was conducted in 60-L reactors for 151 days. Four treatments were carried out: only oil-based cuttings, two proportions (in a volume basis) of organic wastes to drilling cuttings (33 and 75%) and only organic wastes (as a traditional composting reference), with pine-tree woodchips as bulking agent. High degradation percentages of total hydrocarbons (82 %), n-alkanes (96 %) and the 16 USEPA-listed polycyclic aromatic hydrocarbons (93 %) were reached in the treatment with 75% of organic wastes, and applying 33% of organic wastes was not more effective than not applying organic wastes for the drilling cuttings hydrocarbons biodegradation. Furthermore, in the treatment with 75 % of organic wastes, alkanes half-life and polycyclic aromatic hydrocarbons half-life were about 10 times and four times lower, respectively, than those in the treatment with 33 % of organic wastes. Possibly, lower hydrocarbons and salts initial concentrations (i.e., lower toxicity), higher microbial counts, adequate nutrient proportions and water content supported a high biological activity with a consequent elevated biodegradation rate in the treatment with 75 % of organic wastes.

Colaboración en la dirección de los trabajos experimentales y en la redacción del manuscrito.

8.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación,*

transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.

8.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION.

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

8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

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

1. Festa S, Coppotelli BM, Madueño L, Loviso C, Macchi M, Neme Tauil RM, Valacco MP, Morelli IS. "Assigning ecological roles to the populations belonging to a phenanthrene-degrading bacterial consortium using omic approaches".

Se muestran y discuten los resultados correspondientes a la aplicación de herramientas de metagenómica funcional y metaproteómicas con el fin de dilucidar la relación funcional entre los distintos miembros de un consorcio degradador de fenantreno. A través de la realización de estrategias de metagenómica funcional pudimos determinar la presencia en el consorcio de genes de la vía de degradación de PAH afiliados con el orden Burkholderiales. A través del enfoque metaproteómico utilizado se confirmó la importancia funcional, dentro de CON, de las poblaciones pertenecientes al orden Burkholderiales.

2. Macchi M, Martinez M, Neme Tauil RM, Valacco MP, Morelli IS, Coppotelli BM. "Insights from the genome and proteome of *Sphingomonas paucimobilis* strain 20006FA in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon degradation".

Se muestran y discuten los resultados de un abordaje proteogenómico de la ruta de degradación en la cepa *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA. Se realizó la secuenciación y ensamble parcial del genoma de la cepa y se determinó el proteoma de la misma en forma comparativa utilizando glucosa y fenantreno como únicas fuentes de carbono. Sobre la base de datos genómicos y proteómicos, se identificaron 15 enzimas que fueron suficientes para la construcción de una vía completa de la degradación de fenantreno en la cepa *S. paucimobilis* 20006FA y un marco útil para la comprensión de los procesos celulares implicados en la degradación de los PAH.

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

1. Estudio microbiológico y molecular de la comunidad bacteriana de sedimentos de cursos de agua dulce afectados por la actividad humana. Madueño, L; Coppotelli B.M., Terada C., Vidal, N.C.; Oneto M. E; Del Panno M.E; Morelli I.S. Expositor: Madueño L. III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2015. Resumen Publicado Programa Científico del III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental Oral O-4.

2. Metagenómica funcional de un consorcio bacteriano degradador de hidrocarburos policíclicos aromáticos. Festa S.; Madueño L.; Loviso C.L.; Coppotelli B.M.; Morelli I.S. Expositor: Festa S. II Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2015. Resumen Publicado Programa Científico del III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental Oral O-15.

3. Estudio de la funcionalidad de consorcios definidos durante la degradación de fenantreno. Machi M., Festa S., Morelli I.S. y Coppotelli B.M. Expositor: Macchi M..

II Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2015. Resumen Publicado Programa Científico del III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental Poster B-43.

4. Estudio in silico de los productos génicos relacionados con la ruta de degradación de fenantreno de un consorcio bacteriano. Machi M., Morelli I.S. y Coppotelli B.M. Expositor Macchi M. II Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2015. Resumen Publicado Programa Científico del III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental Poster B-75.

5. Efecto de la concentración del surfactante Triton X-100 sobre la cinética de degradación de los PAH y la dinámica de la comunidad bacteriana del suelo. Cecotti M., Mora V.C., Coppotelli B.M., Viera M. y Morelli I.S. Expositor Cecotti M. II Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental. Buenos Aires, Argentina. Noviembre de 2015. Resumen Publicado Programa Científico del III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental Poster B-44.

6. Monitoring the impact of bioaugmentation with a PAH-degrading strain on different soil microbiomes using pyrosequencing. Festa S., Macchi M., Cortés F., Morelli I.S., Coppotelli B.M. Expositor: Festa S. Ecology of Soil Microorganisms 2015. Praga República Checa. Noviembre de 2015. Publicado en el Abstract Books de la Conferencia, p. 323.

7. Pyrosequencing reveals bioaugmentation impact on the dynamics of bacterial community on phenanthrene-contaminated soil. Festa S., Coppotelli B.M., Morelli I.S. Expositor: Morelli I.S. Ecology of Soil Microorganisms 2015. Praga República Checa. Noviembre de 2015. Publicado en el Abstract Books de la Conferencia, p. 341.

8. Proteogenómica de la cepa degradadora de hidrocarburos policíclicos aromáticos *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA. Macchi M., Neme Tauil R.M., Valacco M.P., Moreno S., Morelli I.S., Coppotelli B.M. Expositor: Macchi M. XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2016 y XIV Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Sante Fé, Argentina. Septiembre de 2016. Publicado en plataforma on-line del Congreso MI-0912.

9. Estudio de la diversidad funcional de un consorcio bacteriano degradador de fenantreno utilizando un enfoque metaproteómico. Festa S., Coppotelli B.M., Neme Tauil R.M., Valacco M.P., Moreno S., Morelli I.S. Expositor: Festa S. XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2016 y XIV Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Sante Fé, Argentina. Septiembre de 2016. Publicado en plataforma on-line del Congreso MI-0911

8.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

9. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

9.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles*

de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.

Directora del Proyecto BIORREMEDIACION IN SITU EN LOS SEDIMENTOS DEPOSITADOS EN EL CANAL ESTE DE REFINERIA LA PLATA. Convenio firmado entre el CINDEFI (CONICET) e Y-TEC.

Durante el desarrollo del proyecto se desafiaron una serie de técnicas moleculares de última generación englobadas en lo que hemos llamado Diagnóstico Molecular Ambiental (DMA), con el objetivo de evaluar las posibilidades de autorecuperación del sistema.

Este proyecto ha sido aprobado por el Organismo Provincial para el Desarrollo Sostenible (OPDS) a través de una Resolución.

Durante el período 2015 se presentaron 3 informes de avances y un informe final, de carácter confidencial.

La metodología utilizada permitió realizar un mejor diagnóstico sobre las capacidades de la comunidad microbiana autóctona y proponer un plan de tratamiento y monitoreo. La experiencia obtenida nos permite ahora contar con el DMA como una poderosa herramienta para valorar las posibilidades de recuperación de ambientes contaminados, aplicable a otros ecosistemas.

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

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

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

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

NUCCETELLI, DANIEL OSVALDO <daniel.nuccetelli@ypf.com>

ONETO, MARIA ELENA <maria.oneto@ypftecnologia.com>

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

11. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

11.1 DOCENCIA

11.2 DIVULGACIÓN

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

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

Becarios Doctorales

1. Lic. Sabrina Festa. Beca de Postgrado Tipo I CONICET 2011-2016. Director: Irma Morelli. Tema: Estudio de la estructura y función de las comunidades microbianas de suelos contaminados con PAH: un abordaje molecular.

2. Lic. Marina Peluffo. Beca de Postgrado CONICET 2012-2017. Director: Janina Rosso. Codirector: Dra. Irma S. Morelli. Tema: Remediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) utilizando procesos de oxidación química en reactores batch.

3. Lic. Martina Cecotti. Beca de Postgrado CONICET 2013-2018. Director: Irma Morelli. Tema: Efecto del agregado de surfactantes sobre la degradación de PAH y la diversidad de la comunidad microbiana de suelos crónicamente contaminados.

4. Lic. Marianela Macchi. Beca de Postgrado CONICET 2013-2018. Director: Irma Morelli. Tema: Desarrollo de consorcios bacterianos con alta eficiencia de degradación de PAH y estudio de su aplicación a la recuperación de suelos crónicamente contaminados.

Becarios Posdoctorales

5. Dra. Laura Madueño. Beca Interna Postdoctoral CONICET 2013-2016. Director: Dra. Irma Morelli. Codirector: Dr. Héctor Álvarez. Tema: Optimización de estrategias de bioaumentación con microorganismos autóctonos para la recuperación de suelos de la Patagonia semiárida crónicamente contaminados con hidrocarburos.

6. Dra. Rosana Polifroni. Beca Interna Postdoctoral CONICET 2013-2015. Director: Dra. Marina Nievas. Codirector: Irma Morelli. Tema: Caracterización de biofilms microbianos sobre soportes sólidos utilizados en la biorremediación de efluentes líquidos con hidrocarburos.

7. Dra. Sabrina Festa. Beca Posdoctoral Cofinanciada CONICET-YPF. 2016-2018. Director: Irma Morelli. Codirector María Teresa Del Panno. Tema: Aplicación de estrategias de bioaumentación a la remediación y recuperación de la estabilidad de suelos impactados por la actividad petrolera/petroquímica.

8. Dra. Laura Madueño. Beca Interna Postdoctoral Extraordinaria CONICET 2016-efectivización entrada a Carrera como Investigador Asistente. Director: Dra. Irma Morelli. Tema: Biorremediación in situ de sedimentos de cursos de agua dulce contaminados con hidrocarburos.

Dirección de Investigadores

1. Dra. Verónica Mora. Investigador Asistente CONICET. Resolución 1008/11. Director: Irma Morelli. Tema: Remediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAH) por combinación de procesos de oxidación química y biorremediación.

2. Dra. Bibiana Coppotelli. Investigador Asistente CONICET. Resolución 3446/11. Director: Irma Morelli. Tema: Estudio de consorcios bacterianas degradadoras de hidrocarburos policíclicos aromáticos. Promovido a Adjunto por Resolución 290/17.

3. Dra. Rosana Polifroni. Investigador Asistente CONICET. Resolución 134/16. Director: Dra. Marina Nievas. Codirector: Irma Morelli. Tema: Conservación de consorcios microbianos en biofilms sobre soportes sólidos para su aplicación en procesos de biorremediación de efluentes con hidrocarburos.

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

Dirección de Tesis Doctorales aprobadas

1. Dra. Sabrina Festa. Tema: "Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos policíclicos aromáticos: una visión molecular". Facultad de Ciencias Exactas. Director: Dra. Irma Morelli. Codirector: Dra. Bibiana M. Coppotelli. 31 de Marzo de 2016. Calificación: Sobresaliente (10).

Dirección de Tesis Doctorales en curso

1. Lic. Gabriela Lucía Paladino (2010- continúa). Alumna de la Carrera del Doctorado en Biología de la Universidad Nacional del Comahue (Centro Regional Universitario

Bariloche). Director: Dra. Patricia S. Satti Codirector: Dra. Irma Morelli. Tema: Factibilidad de biotratamiento de recortes de perforación de pozos de gas y petróleo.

2. Lic. Constanza Hozbor (2012-continúa). Alumna de la carrera del doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas. Director: Dra. Irma Morelli Codirector: Dra. Silvia Peressutti. Tema: Estructura del bacterioplancton en el estuario del Río de la Plata y el sector costero bonaerense.

3. Lic. Martina Cecotti (2013- continúa). Alumna de la carrera del doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas. Director: Dra. Irma Morelli. Tema: Efecto del agregado de surfactantes sobre la degradación de PAH y la diversidad de la comunidad microbiana de suelos crónicamente contaminados.

4. Lic. Marianela Macchi. (2013-continúa). Alumno de la carrera del doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas. Directores: Dra. Irma Morelli y Dra. Bibiana Coppotelli. Tema: Desarrollo de consorcios bacterianos con alta eficiencia de degradación de PAH y estudio de su aplicación a la recuperación de suelos crónicamente contaminados.

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

1. Participación en el III Congreso Argentino de Microbiología Agrícola y Ambiental (CAMAYA 2015). Noviembre del 2015. CABA, Argentina.

Disertante en el taller “Organización y gestión de colecciones de cultivos microbianos y preservación de microorganismos”.

Conferencia Plenaria “Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos: una visión molecular”.

2. Participación en Ecology of Soil Microorganisms 2015. Praga República Checa. Noviembre de 2015.

Expositor del Poster "Pyrosequencing reveals bioaugmentation impact on the dynamics of bacterial community on phenanthrene-contaminated soil". Festa S., Coppotelli B.M., Morelli I.S.

3. Participación en el 5th International Symposium on Environmental Biotechnology an Engineering (5 ISEBE). Julio de 2016. San Martín, Buenos Aires, Argentina.

Conferencia Plenaria “New molecular techniques: A shift in bioremediation overview”.

Miembro del comité científico.

4. Participación en el XXIII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2016 y XIV Congreso Argentino de Microbiología. Rosario, Sante Fé, Argentina. Septiembre de 2016.

Coordinadora de la Mesa Redonda “Asomicrobiota: el desafío de la biotecnología ambiental en Latinoamérica”

Miembro del comité científico.

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

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

1. Proyecto: Optimización de procesos de biorremediación de suelos crónicamente contaminados con hidrocarburos y evaluación del grado de restauración de la funcionalidad del suelo alcanzado. Proyectos de Investigación Orientados CONICET - YPF. Período: 2014-2016. Monto: \$650.000.

2. Proyecto: Biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos: Una visión molecular. PICT 2013 Agencia Nacional de Promoción Científica y Técnica. Período: 2014-2017. Monto: \$480.350

3. Subsidio para viajes y estadía de la UNLP, para asistir a la reunión Ecology of Soil Microorganisms. 29 de noviembre de al 3 de Diciembre de 2015. Praga, República Checa. Monto \$15.600.

4. Subsidio para Asistencia a Reuniones Científicas y Tecnológicas, CIC-PBA, para asistir a la reunión Ecology of Soil Microorganisms. 29 de noviembre de al 3 de Diciembre de 2015. Praga, República Checa. Monto \$10.000.

5. Subsidio Institucional CIC-PBA, 2015. Monto: \$10.000.

6. Proyecto: Tratamiento de residuos con alto contenido de hidrocarburos por tecnologías biológicas acopladas a oxidación química. PIT-AP-BA 2016 CIC-PBA. Período: 2016-2018. Monto: \$1.000.000

7. Subsidio Institucional CIC-PBA, 2016. Monto: \$13.000.

8. Proyecto: Comunidades bacterianas degradadoras de hidrocarburos: desde los estudios de diversidad a la microbiómica funcional. Proyecto acreditado por la UNLP en el marco del programa de Incentivos. Período: 2016-2019. Monto: \$80.000

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

1. Convenio con YPF Tecnología S.A. (2014). Biorremediación in situ en los sedimentos depositados en el canal este de refinería La Plata. Responsable: Dra. Irma Susana Morelli \$1.883.000

18. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.

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

Miembro del Consejo Directivo del CINDEFI. UNLP-CONICET. 2016. .Aproximadamente un 1% de mi cargo horaria.

Representante Departamento de Ciencias Biológicas en la Comisión de Grados Académicos de la Facultad. 2015-2016. Aproximadamente un 2% de mi cargo horaria.

Representante del Departamento de Ciencias Biológicas en la Comité Académico de la carrera del Doctorado de la Facultad. 2015-2016. Aproximadamente un 2% de mi cargo horaria.

Representante del Departamento de Ciencias Biológicas en la Comisión de Seguimiento del Plan de Estudios de la Licenciatura en Química y Tecnología Ambiental. 2015-2016. Aproximadamente un 1% de mi cargo horaria. .

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

Profesor Adjunto a cargo de una comisión de la Asignatura Microbiología General (1er semestre) y a cargo de la Asignatura Ecología Microbiana (segundo semestre). Dictado de clases teóricas, toma y corrección de exámenes parciales, toma de exámenes finales. Aproximadamente un 25% de mi cargo horaria.

Profesor invitado a dictar el Seminario "Recuperación de Sitios Contaminados" (24hs) de la Maestría en Ingeniería Ambiental y/ o Especialización en Ingeniería Ambiental, Facultad Regional La Plata, UTN. Septiembre de 2015. Aproximadamente un 10% de mi carga horaria durante el mes de Septiembre.

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

- Jurado Titular del Trabajo de Tesis Doctoral de la Lic. Carla Di Martino, "Estudio de bacterias del género *Pseudomonas* en la degradación de hidrocarburos y síntesis de biosurfactantes: análisis del efecto de los polihidroxicanoatos". Dirigido por la Dra. Laura Judith Raiger lustman. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. 29 de Abril de 2015.
- Jurado Titular del Trabajo de Tesis Doctoral de la Lic. Priscila Calderoli, "Análisis de las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno del suelo aplicando procedimientos metagenómicos". Dirigido por el Dr. Mario Aguilar y Codirigido por la Dra. Mónica Collavino. Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 30 de Marzo de 2016.- Evaluador de Proyectos (PICT 2014) para la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.
- Integrantes Comisión Ad-Hoc - PICT 2015 - para el tratamiento de los proyectos presentados en el Área Argentina Innovadora 2020.
- Integrante Comité Evaluador en el Proceso de Categorización 2014 de Docentes Investigadores de la Universidades Nacionales de la Región NOA. Programa de Incentivos. Secretaría de Políticas Universitarias. Ministerio de Educación.
- Evaluador de informes de Proyectos Programa de Incentivos de la Universidad Nacional de Tucumán. 2016.
- Evaluador de Proyectos (PICT 2016) para la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica.
- Evaluador Solicitud de Promociones Carrera del Investigador 2016. CONICET.

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

COMUNIDADES BACTERIANAS DEGRADADORAS DE PAH: DESDE LOS ESTUDIOS DE DIVERSIDAD A LA MICROBIÓMICA FUNCIONAL

Objetivos Generales

La contaminación ambiental es uno de los desafíos más relevantes de nuestro tiempo, en términos de su potencial efecto adverso sobre la biodiversidad y la salud humana (Megharaj y col., 2011). La dependencia de la energía basada en el petróleo ha alimentado el crecimiento industrial y la prosperidad; sin embargo trajo como consecuencia la dispersión de los hidrocarburos en diferentes ambientes (Vilchez-Vargas y col., 2010). En general la contaminación con derivados del petróleo se caracteriza por la liberación de una mezcla compleja de hidrocarburos de diferentes solubilidad y biodegradabilidad. Dentro de los hidrocarburos, los policíclicos aromáticos (PAH), constituyen un tema de interés ambiental debido a su persistencia y a sus propiedades tóxicas, mutagénicas y carcinogénicas (Ahlf y col., 2001).

La contaminación con PAH constituye una de las principales amenazas antropogénicas hacia el ecosistema de suelo. La biorremediación tiene hoy en día gran aceptación como tratamiento para la recuperación de suelos contaminados con mezclas complejas conteniendo PAH, debido a que ha demostrado ser una tecnología efectiva, costo-competitiva y ambientalmente amigable (Desai y col., 2010). Afortunadamente, la naturaleza orgánica de los PAH permite que sean metabolizados por diversos microorganismos. Sin embargo, hasta el presente, este potencial no ha sido suficientemente explotado debido a la falta de conocimiento sobre las actividades metabólicas, estructura y dinámicas de las comunidades microbianas (de Lorenzo, 2008).

Cualquier esfuerzo racional de interferir con los procesos microbianos para optimizar el rendimiento metabólico de la comunidad microbiana del suelo tiene que hacer frente a la enorme complejidad del sistema (Vilchez-Vargas y col., 2010). Un claro ejemplo de

esto resulta la estrategia de bioaumentación, definida como la técnica que busca mejorar la capacidad de una matriz (suelo u otro biotipo) para eliminar un contaminante, a través de la introducción de cepas o consorcios con características catabólicas específicas (El Fantroussi y Agathos, 2005). Si bien el bioaumentación ha sido objeto de numerosos estudios (Coppotelli y col., 2008, Ibarrolaza y col., 2011, Madueño y col. 2015), continúa siendo uno de los capítulos más controversiales de la biotecnología ambiental y sus resultados continúan siendo impredecibles (Fernández-Luqueño y col. 2011). Resulta claro que no se ha logrado entender suficientemente bien cómo los microorganismos introducidos se comportan bajo condiciones ambientales y dentro del microbioma nativo del suelo (Moreno-Forero y van der Meer, 2015).

Los avances en las técnicas cultivo independientes junto con las herramientas bioinformáticas actuales nos han proporcionado la posibilidad de realizar una mirada aguda sobre las comunidades microbianas. Las técnicas moleculares basadas en el estudio del DNA, han permitido la identificación de nuevos microorganismos y genes catabólicos (Jones y Rodgers-Vieira, 2014; Festa y col., 2016a), abriendo nuevas oportunidades en el desarrollo de los procesos de biorremediación. Sin embargo, los estudios basados en la determinación de la diversidad genética pueden llevar a una incorrecta identificación de las poblaciones activamente involucradas en los procesos de biodegradación, cuando se determinan las especies más abundantes presentes en los sitios contaminados (Auffret y col., 2015). Los estudios de la expresión de genes funcionales (RT-PCR, metatranscriptómica y, metaproteómica), en conjunto con la genómica acoplada al uso de sondas de hidrocarburos marcados con isotopos estables (SIP del inglés stable isotope probing) (Uhlik y col., 2013) y la metabolómica, han brindado a los ecólogos microbianos la oportunidad de transitar desde los estudios de diversidad a la microbiómica funcional (Moreno-Forero y van der Meer, 2015).

En este marco, en el presente proyecto propone aplicar herramientas DNA-SIP, metagenómica, transcriptómicas (RT-PCR) y metabolómica, al estudio de la relación funcional entre un inoculante degradador de PAH y el microbioma nativo del suelo. La integración de los datos taxonómicos y funcionales obtenidos a partir de cultivos puros, consorcios microbianos y comunidades microbianas ambientales degradadoras de PAH, constituirá un significativo aporte a la reconstrucción de los procesos que realmente ocurren en los sitios contaminados.

Objetivos específicos

I Estudiar la degradación de PAH, la expresión de genes catabólicos claves y la producción de metabolitos intermedios en cultivos de cepas degradadoras de PAH frente a distintos sustratos (PAH puro, mezcla de PAH, mezcla de PAH con hidrocarburos alifáticos, mezcla de PAH con otra fuente de carbono).

II Aplicar estrategias DNA-SIP, metagenómica, transcriptómica y metabolómica al estudio de la ruta metabólica cooperativa y las interacciones fisiológicas en consorcios bacterianos degradadores frente a mezclas complejas de PAH.

Metodología (breve descripción)

El grupo de investigación cuenta con diferentes cepas degradadoras de PAH aisladas de suelo pertenecientes a la familia Sphingomonadaceae (Coppotelli y col, 2010; Madueño y col., 2011). Estas cepas se han estudiado como inoculantes en suelo obteniendo resultados satisfactorios (Coppotelli y col 2008, Madueño y col 2015, Festa y col., 2016a).

Sobre las cepas degradadoras de PAH aisladas de suelo, se realizó la secuenciación y ensamblaje parcial de los genomas en los cuales se identificaron in silico genes codificantes relacionados con las vías de degradación de PAH (Festa y col., 2016b; Madueño y col., 2016). La sobreexpresión de los genes catabólicos aromáticos, revelada por Real Time-PCR, es un camino a seguir para comprender la compleja regulación de los genes de degradación (Khara y col., 2014).

i) A partir de la información contenida en los genomas se diseñarán primers específicos para genes codificantes de enzimas intervinientes en el metabolismo de PAH en cada cepa.

ii) En primer lugar se realizará la comparación en la expresión génica entre los cultivos de glucosa y fenantreno, mediante la extracción de mRNA, transformación en cDNA y posterior amplificación y cuantificación mediante Real Time-PCR con los primers específicos diseñados. Posteriormente se comparará con cultivos conteniendo mezclas de PAH con hidrocarburos alifáticos y con compuestos fácilmente asimilable (glucosa, gluconato, etc.).

iii) Sobre los sobrenadantes de los cultivos se realizarán extracciones sucesivas de con distintos solventes y se analizarán en el CG MS (Lopez y col 2008), para la determinación del perfil metabólico.

El grupo de investigación cuenta también con diferentes consorcios bacterianos degradadores de PAH aislados de distintos suelos (prístinos, contaminados artificialmente y crónicamente contaminados). Sobre ellos se ha estudiado la cinética de degradación de PAH, la acumulación de productos de degradación y la dinámica estructural (a nivel cultivable y molecular) (Madueño y col., 2009; Macchi y col., 2012 y Festa y col., 2013). De los consorcios se han obtenido cepas aisladas, sobre ellas se realizó la secuenciación y ensamble parcial de sus genomas.

iv) Se preparan cultivos de consorcios naturales y definidos (preparados a partir de cepas aisladas y secuenciadas) en MML con fenantreno marcado con ^{13}C como única fuente de carbono. La concentración de fenantreno marcado y los tiempos de incubación y muestreo serán determinados de acuerdo a la cinética de eliminación de cada consorcio. Se intentará inicialmente estudiar los microorganismos directamente involucrados en la degradación, realizando muestreos a tiempos cortos. De ser posible en algunos cultivos se realizará el agregado posterior de fenantreno no marcado, de esta manera el seguimiento de la marca a tiempos largos nos indicará la cadena trófica (Maxfield y col., 2012).

A distintos tiempos de incubación se realizará una centrifugación, en el sobrenadante se determinará la concentración de fenantreno y los distintos metabolitos por GC/MS como se describió previamente.

Sobre las células se realizará la extracción de DNA y la separación entre el ^{12}C - y el ^{13}C -DNA se realizará por ultracentrifugación isopínica en gradiente de CsCl (Lueders y col., 2004). ii) A partir de un pool de los ^{13}C -DNA se realizará shotgun metagenómica mediante la tecnología IlluminaHiSeq 2000 en Indear, Rosario, Argentina.

v) A partir de la información obtenida en el punto I), los genomas bacterianos con los que se cuenta y los datos de metagenómica del DNA marcado se contará con suficiente información que permitirá definir genes claves en la degradación de fenantreno. Se estudiará entonces los cambios en la expresión de estos genes en consorcios bacterianos creciendo en mezclas de PAH con hidrocarburos alifáticos y con compuestos fácilmente asimilable (glucosa, gluconato, etc.), a través de RT-PCR y metabólica.

Bibliografía

Ahlf, W., Frühling, W., & Neumann-Hensel, H. (2001). Advances in Biological Assessment of Chemical-Impacted Soils. In G. M. Stegmann, G. Brunner, W. Calmano (Ed.), *Treatment of Contaminated Soil – Fundamentals, Analysis, Applications* (pp. 161–177). Berlin: Springer.

Auffret, M. D., Yergeau, E., Labbé, D., Fayolle-Guichard, F., & Greer, C. W. (2014). Importance of *Rhodococcus* strains in a bacterial consortium degrading a mixture of hydrocarbons, gasoline, and diesel oil additives revealed by metatranscriptomic analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(5), 2419–2430.

Coppotelli, B. M., Ibarrolaza, A., Del Panno, M. T., & Morelli, I. S. (2008). Effects of the inoculant strain *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA on soil bacterial community and biodegradation in phenanthrene-contaminated soil. *Microbial Ecology*, 55(2), 173–83.

Coppotelli, B. M., Ibarrolaza, A., Dias, R. L., Del Panno, M. T., Berthe-Corti, L., & Morelli, I. S. (2010). Study of the degradation activity and the strategies to promote the bioavailability of phenanthrene by *Sphingomonas paucimobilis* strain 20006FA. *Microbial Ecology*, 59(2), 266–76.

de Lorenzo, V. (2008). Systems biology approaches to bioremediation. *Current Opinion in Biotechnology*, 19, 579–589.

Desai, C., Pathak, H., & Madamwar, D. (2010). Advances in molecular and “-omics” technologies to gauge microbial communities and bioremediation at xenobiotic/anthropogen contaminated sites. *Bioresource Technology*, 101(6), 1558–69.

El Fantroussi, S., & Agathos, S. N. (2005). Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation? *Current Opinion in Microbiology*, 8(3), 268–75.

Fernández-Luqueño, F., Valenzuela-Encinas, C., Marsch, R., Martínez-Suárez, C., Vázquez-Núñez, E., & Dendooven, L. (2011). Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil-possibilities and challenges: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(1), 12–30.

Festa, S., Coppotelli, B. M., & Morelli, I. S. (2013). Bacterial diversity and functional interactions between bacterial strains from a phenanthrene-degrading consortium obtained from a chronically contaminated-soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 85, 42–51.

Festa, S., Coppotelli, B. M., & Morelli, I. S. (2016a). Comparative bioaugmentation with a consortium and a single strain in a phenanthrene-contaminated soil: Impact on the bacterial community and biodegradation. *Applied Soil Ecology*, 98, 8–19.

Festa, S., Macchi, M., Cortés, F., Morelli, I., & Coppotelli, B. (2016b). Monitoring the impact of bioaugmentation with a PAH-degrading strain on different soil microbiomes using pyrosequencing. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8).

Ibarrolaza, A., Coppotelli, B. M., Del Panno, M. T., Donati, E. R., & Morelli, I. S. (2011). Application of the knowledge-based approach to strain selection for a bioaugmentation process of phenanthrene- and Cr(VI)-contaminated soil. *Journal of Applied Microbiology*, 111(1), 26–35.

Jones, M., & Rodgers-Vieira, E. (2014). Association of growth substrates and bacterial genera with benzo[a]pyrene mineralization in contaminated soil. *Environmental Engineering Science*.

Khara, P., Roy, M., Chakraborty, J., Ghosal, D., & Dutta, T. K. (2014). Functional characterization of diverse ring-hydroxylating oxygenases and induction of complex aromatic catabolic gene clusters in *Sphingobium* sp. PNB. *FEBS Open Bio*, 4, 290–300.

López, Z., Vila, J., Ortega-Calvo, J., & Grifoll, M. (2008). Simultaneous biodegradation of creosote-polycyclic aromatic hydrocarbons by a pyrenedegrading *Mycobacterium*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 78, 739–739.

Lueders, T., Manefield, M., & Friedrich, M. (2004). Enhanced sensitivity of DNA- and rRNA-based stable isotope probing by fractionation and quantitative analysis of isopycnic centrifugation gradients. *Environmental Microbiology*, 6, 73–78.

Macchi, M., Festa, S., Coppotelli, B., & Morelli, I. (2012). Study of the competence of a PAH-degrading strain to establish and promote the phenanthrene degradation by a native Phenanthrene-degrading consortium. In 14th International Symposium on Microbial Ecology- ISME-14.

Madueño, L., Coppotelli, B. M., & Morelli, I. S. (2009). Efecto de la inoculación de la cepa *Sphingomonas paucimobilis* 20006FA sobre la composición de un consorcio bacteriano degradador de fenantreno. *Revista Argentina de Microbiología*, 41, 65–72.

Madueño, L., Coppotelli, B. M., Alvarez, H. M., & Morelli, I. S. (2011). Isolation and characterization of indigenous soil bacteria for bioaugmentation of PAH contaminated soil of semiarid Patagonia, Argentina. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(2), 345–351.

Madueño, L., Alvarez, H. M., & Morelli, I. S. (2015). Autochthonous bioaugmentation to enhance phenanthrene degradation in soil microcosms under arid conditions. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(7), 2317–2326.

Madueño, L., Macchi, M., Morelli, I. S., & Coppotelli, B. M. (2016). Draft Whole-Genome Sequence of *Sphingobium* sp. 22B, a Polycyclic Aromatic Hydrocarbon–Degrading Bacterium from Semiarid Patagonia, Argentina. *Genome Announcements*, 4(3), e00488–16.

Maxfield, P., Dildar, N., Hornibrook, E., Stott, A., & Evershed, R. (2012). Stable isotope switching (SIS): a new stable isotope probing (SIP) approach to determine carbon flow in the soil food web and dynamics in organic matter pools. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 26, 997–1004.

Megharaj, M., Ramakrishnan, B., Venkateswarlu, K., Sethunathan, N., & Naidu, R. (2011). Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. *Environment International*, 37(8), 1362–1375.

Moreno-Forero, S. K., & van der Meer, J. R. (2015). Genome-wide analysis of *Sphingomonas wittichii* RW1 behaviour during inoculation and growth in contaminated sand. *The ISME Journal*, 9(1), 150–165.

Uhlik, O., Leewis, M. C., Strejcek, M., Musilova, L., Mackova, M., Leigh, M. B., & Macek, T. (2013). Stable isotope probing in the metagenomics era: A bridge towards improved bioremediation. *Biotechnology Advances*, 31(2), 154–165.

Vilchez-Vargas, R., Junca, H., & Pieper, D. H. (2010). Metabolic networks, microbial ecology and “omics” technologies: Towards understanding in situ biodegradation processes. *Environmental Microbiology*, 12(12), 3089–3104.

TRATAMIENTO DE RESIDUOS CON ALTO CONTENIDO DE HIDROCARBUROS POR TECNOLOGÍAS BIOLÓGICAS ACOPLADAS A OXIDACIÓN QUÍMICA

La generación de residuos oleosos con alto contenido en hidrocarburos durante la exploración, almacenamiento, transporte y refinación del petróleo, es un problema inevitable para la industria petrolera y petroquímica. La composición química de estos barros varía ampliamente dependiendo del origen del crudo, esquema de procesamiento, equipamiento y reactivos químicos utilizados durante su refinamiento. Debido a su continua generación, toxicidad y efectos ambientales adversos estos barros requieren de un tratamiento efectivo.

La provincia de Buenos Aires cuenta con tres importantes polos petroquímicos (Bahía Blanca, Ensenada y Dock Sud) en su territorio, por lo que la adecuada gestión de los residuos oleosos que generan resulta una preocupación continua, tanto para las empresas del sector como para las entidades gubernamentales.

Existen variadas tecnologías para la disposición de barros incluyendo la incineración, estabilización/solidificación, oxidación y biorremediación. Debido a la variabilidad en el tipo y grado de recalcitrancia, son pocas las tecnologías que pueden alcanzar el compromiso de un balance entre el estricto cumplimiento de las regulaciones ambientales y un costo aceptable de tratamiento.

El presente proyecto propone estudiar el alcance de diferentes estrategias de tratamiento basadas en la combinación de técnicas de oxidación química y tratamiento biológico, en la degradación de hidrocarburos e inmovilización de metales pesados presentes en los barros oleosos.

Dado que una tecnología de remediación no podría satisfacer todos los requerimientos para los diferentes barros y residuos, el presente proyecto propone estudiar el alcance de la aplicación combinada de métodos biológicos en asociación con otros de mayor intensidad como la oxidación química.

Para tal fin, muestras de barros oleosos serán tratadas con oxidantes químicos (persulfato de amonio; Fenton) y posteriormente sometidos a diferentes estrategias biológicas: i) compostaje, ii) inoculación con un hongo saprófito inmovilizado en un soporte orgánico y iii) fitorremediación en presencia de un agente surfactante.

Se evaluará el alcance de las técnicas en la eliminación de los hidrocarburos totales del petróleo (HCP) alifáticos, aromáticos, resinas y asfaltenos, y en el secuestro de metales pesados presentes en los barros. Así mismo se estudiará la calidad del material generado luego de las diferentes estrategias aplicadas.

El concepto de calidad tomará en cuenta parámetros de referencia físicos, químicos y biológicos que en su conjunto permitan ligar al concepto de funcionalidad del ecosistema (Astier et al., 2002).

Del análisis de los resultados se evaluarán los alcances y limitaciones de las estrategias propuestas, contribuyendo a la definición de estándares de disposición de estos materiales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Objetivo I: Caracterización física, química, microbiológica y toxicológica de los barros oleosos.
- Objetivo II: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo sobre la eliminación de hidrocarburos y la disponibilidad del contaminante
- Objetivo III: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo seguido de compostaje sobre la eliminación de hidrocarburos del barro.
- Objetivo IV: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo seguido de inoculación fúngica sobre la eliminación de hidrocarburos del barro.
- Objetivo V: Evaluación de la fitorremediación con y sin el agregado de un surfactante, como paso final de las secuencias oxidación/compostaje y oxidación/inoculación fúngica sobre la eliminación de hidrocarburos del barro.
- Objetivo VI: Evaluación de la calidad del material generado
- Objetivo VII: Obtención de consorcios degradadores de HCP en sistemas de cultivo continuo, a partir de colección de cultivos de ambientes fríos y de los propios barros oleosos.
- Objetivo VIII: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo seguido de un tratamiento biológico en medio acuoso con consorcios degradadores adaptados. Efecto del agregado de surfactantes.

Dado que una tecnología de remediación no podría satisfacer todos los requerimientos para los diferentes barros y residuos, el presente proyecto propone estudiar el alcance de la aplicación combinada de métodos biológicos en asociación con otros de mayor intensidad como la oxidación química.

Para tal fin, muestras de barros oleosos serán tratadas con oxidantes químicos (persulfato de amonio; Fenton) y posteriormente sometidos a diferentes estrategias biológicas.

Se evaluará el alcance de las técnicas en la eliminación de los hidrocarburos totales del petróleo (HCP) alifáticos, aromáticos, resinas y asfaltenos, y en el secuestro de metales pesados presentes en los barros. Así mismo se estudiará la calidad del material generado luego de las diferentes estrategias aplicadas.

El concepto de calidad tomará en cuenta parámetros de referencia físicos, químicos y biológicos que en su conjunto permitan ligar al concepto de funcionalidad del ecosistema (Astier et al., 2002).

Del análisis de los resultados se evaluarán los alcances y limitaciones de las estrategias propuestas, contribuyendo a la definición de estándares de disposición de estos materiales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Objetivo I: Caracterización física, química, microbiológica y toxicológica de los barros oleosos.
- Objetivo II: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo sobre la eliminación de hidrocarburos y la disponibilidad del contaminante
- Objetivo III: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo seguido de compostaje sobre la eliminación de hidrocarburos del barro.

Metodología (descripción breve)

El diseño de investigación se desarrollará cumplimentando los siguientes objetivos específicos

Objetivo I

Caracterización física, química, microbiológica y toxicológica de los barros oleosos.

- pH, conductividad eléctrica, potencial redox,
- Matrices de fluorescencia de emisión excitación (David Gara y col., 2011)
- Fraccionamiento S.A.R.A (ASTM D4124 - 01 (Standard Test Methods for Separation of Asphalt into Four Fractions). Concentración de hidrocarburos alifáticos y aromáticos por CG-FID (Vecchioli y col. 1997) y la concentración de resinas y asfaltenos por IR.
 - Determinación de la fracción de hidrocarburos biodisponible mediante extracción con TENAX (Cui et al., 2013) y posterior determinación por GC-FID.
 - Concentración de metales: Ni, V, Zn, Cd (II), Cr(VI), Pb y Fe por espectrofotometría de absorción atómica.
 - Recuento de poblaciones bacterianas: heterótrofa en R2A (Reasoner y Geldreich, 1985) y degradadora de hidrocarburos alifáticos y de poliaromáticos (Bogardt y col. 1992)
 - Extracción de ADN y posterior cuantificación de genes funcionales relacionados con la degradación de hidrocarburos por RT-PCR..
 - Evaluación de la toxicidad a través de bioensayos: test de germinación de semilla (L. sativa). (US EPA 712-C-96-154. (OPPTS 850.4200). 1996

Objetivo II

Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo sobre la eliminación de hidrocarburos y la disponibilidad del contaminante

- Oxidación química con S₂O₈²⁻ (PS), principalmente sobre barros con mayor proporción de hidrocarburos aromáticos. Se ensayará la activación térmica a temperaturas moderadas (T < 50°C) y la activación química con iones Fe (II) utilizando ácido gálico o cítrico como agente quelante. Evaluación del efecto del pH, tiempo de reacción, concentración del agente oxidante y del catalizador sobre la efectividad del proceso oxidativo.
 - Oxidación química con el sistema H₂O₂/Fe (II)/quelante, principalmente sobre barros con mayor contenido de hidrocarburos alifáticos. Evaluación del efecto del pH, tiempo de reacción, concentración del agente oxidante y del catalizador sobre la efectividad del proceso oxidativo.
 - Los barros oxidados serán caracterizados de acuerdo a lo descrito en Objetivo I.

La efectividad del tratamiento oxidativo se evaluará en función de los cambios producidos sobre la eliminación/biodisponibilidad de los HCP del barro.

Objetivo III: Evaluación de la eficiencia del tratamiento oxidativo seguido de compostaje sobre la eliminación de hidrocarburos del barro.

La estrategia compostaje será ensayada sobre muestras de barro oleoso, oxidado y sin oxidar, como control.

- Selección de la relación barro/residuo orgánico
- Compostaje

Seleccionada la proporción más adecuada, se armarán microcosmos en cajas plásticas de 40 L por triplicado, sobre un lecho de grava (con registro de T e inyección de aire). Los microcosmos serán incubados durante 12 meses. Periódicamente serán abiertos para su mezclado. Una vez evidenciados cambios macroscópicos indicadores de transformación, se procederá al análisis mensual de actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo biogeoquímico de la materia (amil sulfatasa, ureasa, fosfatasa alcalina y ácida, proteasa y lipasa) (Pessacq et al., 2015; Petr Baldrian, 2014). Se

reservará muestra para la extracción de ADN y posterior a) cuantificación por qPCR de poblaciones bacterianas potencialmente degradadoras de PAH mediante el gen dioxigenasa utilizando primers dirigidos al gen PAH-RHD α de poblaciones bacterianas Gram-positivas y Gram-negativas (Cebron et al., 2008) y genes alcano monooxygenasa (alkB) (Sutton et al., 2014), respecto de la densidad de población (genes 16S rRNA). La diversidad de la comunidad microbiana será analizada por secuenciación masiva del gen 16S rRNA y 18SrRNA (Muehe et al., 2015).

Periódicamente se determinará la concentración de HCP y la fitotoxicidad. Finalmente se determinará la concentración de metales pesados del barro tratado.

Se reservará material compostado para aplicar la estrategia de fitorremediación.

Bibliografía

Astier, C.M., Mass-Moreno, M. y Etchevers, B.J. 2002. Derivación de indicadores de calidad de suelo en el contexto de la agricultura sustentable. *Agrociencia* 36: 605-620.

Baldrian Petr 2014. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 78:11–18

Bogart, A.H., Hemmingsen, B.B., 1992. Enumeration of phenanthrene degrading bacteria by an overlayer technique and its use in evaluation of petroleum contaminated sites. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2579–2582.

Cebron A, Norini M-P, Beguiristain T & Leyval C (2008) Real-time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD α) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples. *J Microbiol Methods* 73: 148–159.

Cui X, Mayer P, Gan J. 2013. Methods to assess bioavailability of hydrophobic organic contaminants: Principles, operations, and limitations. *Environ Pollut*;172:223-34.

David Gara P, Rosso JA, Martin M, Bosio GN, Gonzalez M and Mártire D. 2011. Characterization of humic substances and their role in photochemical processes of environmental interest. *Trends in Photochemistry & Photobiology*, 13: 51-70. (ISSN: 0972-4532)

Muehe E. Marie, Pascal Weigold, Irini J. Adaktylou, Britta Planer-Friedrich, Ute Kraemer, Andreas Kappler, Sebastian Behrens. 2015. Rhizosphere Microbial Community Composition Affects Cadmium and Zinc Uptake by the Metal-Hyperaccumulating Plant *Arabidopsis halleri* *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 81 N6

Pessacq J., Medina R., Terada C., Bianchini F., Morelli I.S., Del Panno, M.T. 2011. Assessment of the responsiveness to different stresses of the microbial community from long-term hydrocarbon contaminated soils. *Water, Air & Soil Pollution*, 226 (2).

Reasoner, D., Geldreich, E., 1985. A view medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology* 40, 1–7.

Sutton NB1, Langenhoff AA, Lasso DH, van der Zaan B, van Gaans P, Maphosa F, Smidt H, Grotenhuis T, Rijnaarts HH. 2014 *Appl Microbiol Biotechnol.* 98(6):2751-64.

Vecchioli, G.I., Costanza, O.R., Giorgeri, S.A., Remmler, M., 1997. Extent of cleaning achievable by bioremediation of soil contaminated with petrochemical sludges. *Journal of Chemistry Technology and Biotechnology* 70, 331–336.

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
 - a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 22).

- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda “Informe Científico Período”.
 - c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: infinvest@cic.gba.gob.ar (puntos 1 al 22), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.
- C. Sistema SIBIPA:
- a. Se deberá petitionar el informe en la modalidad on line, desde el sitio web de la CIC, sistema SIBIPA (ver instructivo).

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