



## INFORME PERIODO 2012-2013.

### 1. APELLIDO: Gortari

Nombre(s): María Cecilia.

Título (s) Med. Vet. / Bact. Clínica e Industrial

### 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 A. Hours.
- c) Proyecto de Investigación Plurianual (PIP 112-201101-00662) del CONICET: Microorganismos, enzimas y procesos biotecnológicos. Res. 1672/12. Años: 2012-2014.

### 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.: (B1900ASH)

Prov. Bs. As.

Tel. (0221) 483-3794, int. 112

Dirección Electrónica:

### 5. LUGAR DE TRABAJO: Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales.

Dependencia: Facultad de Ciencias Exactas (UNLP-CONICET).

Dirección: Calle 50 y 115..... N °.....

Ciudad: La Plata

C. P. (B1900ASH) Prov., Bs. As.....Tel. (0221) 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

- El informe debe contener los títulos y subtítulos completos que se detallan en hojas adjuntas y un índice
- Se deben anexar al final del informe las copias de las publicaciones, resúmenes de trabajos, informes y memorias técnicas a los que se hace referencia en el desarrollo del mismo, así como cualquier otra documentación que se considere de interés..
- El informe se deberá presentar impreso en hojas **perforadas** A-4. En la etiqueta de mismo se consignará el apellido y nombre del Personal de Apoyo y la leyenda «Informe Científico-tecnológico período . . . .
- 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	4
8. OTRAS ACTIVIDADES	7
8.1. Publicaciones. Comunicaciones	7
8.2- Cursos de perfeccionamiento, viajes de estudio	7
8.3. Asistencia a reuniones científicas	8
9. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.	8
10. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES	8

## 7. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO

### **Cultivos de *Purpureocillium lilacinum* (Ex. *Paecilomyces lilacinus*).**

**Aislamientos utilizados:** *P. lilacinum* # 876 y dos *P. sp.* obtenidos 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.

**Inóculos:** se prepararon a partir de cultivos de *P. lilacinum* en Erlenmeyer sobre agar papa glucosado incubados a 28-30°C por 7-10 días (superficie totalmente cubierta de esporos). Los esporos se resuspendieron con solución de Tween 80 (0,1%), se contaron en cámara de Neubauer y la suspensión fue ajustada según requerimientos.

Se realizaron cultivos de *P. lilacinum* en medio líquido siguiendo las técnicas descritas en informes anteriores. En todos los casos las muestras de los extractos crudos se conservaron a -20°C hasta su utilización. Las determinaciones habituales (contenido de proteína, actividad quitinolítica y/o proteínolítica) se realizaron según técnicas descritas en informes anteriores

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

Ensayo enzimático: se prepararon 40 tubos con 20 mg de quitina (< 0,29 mm, malla 50), 1,8 ml de sol. buffer acetato (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 durante 10 días. 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 analizar por HPLC. A 200 µl del filtrado se le agregaron 800 µl de alcohol frío en agitación para precipitar proteínas. La mezcla fue dejada en el freezer durante la noche. Se centrifugó a 5.000 rpm por 20 min. Se tomaron 700 µl del sobrenadante y se filtraron por filtros (tamaño de poro: 0,22 µm). Por ensayos previos se decidió utilizar como patrón suspensiones de GlcNAc de 1 mg/ml y 2 mg/ml, respectivamente. Se tomaron 100 µl de cada uno y se procesaron de igual modo que las muestras. El volumen de inyección fue de 20 µl y el tiempo de corrida de 20 min.

Se confirmó la presencia de GlcNAc pero los resultados obtenidos no pudieron correlacionarse con el tiempo de incubación. También se analizaron por HPLC muestras tomadas directamente de cultivos líquidos. Nuevamente se determinó la presencia de GlcNAc pero los resultados obtenidos fueron erráticos sin que se pudiera arribar a una conclusión clara.

### **Estudio comparativo del crecimiento de los aislamientos de *Purpureocillium sp.* sobre agar papa glucosado (PDA) a diferentes temperaturas y bajo condiciones de fotoperiodo (14 h luz/10 h oscuridad) en invernáculo.**

Los 3 aislamientos se sembraron por puntura en placas de Petri (Ø = 9 cm) y se incubaron en oscuridad a 18 ± 0,68, 24 ± 1,02 y 31 ± 1,53°C y con régimen variable de iluminación a 26°C.

Se encontraron diferencias significativas respecto de la temperatura, siendo mayor el crecimiento y el número de conidias a 30°C. En invernáculo las colonias alcanzaron menor tamaño y presentaron mayor variabilidad fenotípica.

### **Estudio comparativo del crecimiento en diferentes medios sólidos de cultivo de los aislamientos de *Purpureocillium sp.***

Los medios utilizados fueron: agar papa dextrosa (APD), agar agua 1% (AA), agar caseína (AC), agar quitina swollen (AQS) y agar quitina swollen con púrpura de bromocresol (AQSPB). Los medios AA, AC y AQS se prepararon de la forma descrita en informes anteriores. Para la revelación del halo de hidrólisis en el medio AQS se utilizó una solución de Rojo Congo al 0,1%. El medio AQSPB se preparó adicionando a la solución de quitina swollen 0,15 g/l

púrpura de bromocresol (un indicador de pH) y 15 g/l de agar. El pH fue ajustado a 4,7. Las variables de respuesta analizadas fueron: a) velocidad de crecimiento, b) diámetro de la colonia, c) hidrólisis de caseína y quitina (sobre AC y AQS) y d) número de esporos al término de 14 días de crecimiento, según se describe a continuación:

a) velocidad de crecimiento: se registró el crecimiento diariamente; b) diámetro de la colonia: usando dos diámetros cardinales; c) hidrólisis caseína y quitina: la actividad enzimática extracelular fue expresada como: 1-C/H siendo (C) el diámetro de la colonia y (H) el halo de hidrólisis; d) número de esporos: se estimó la producción de esporos tomando como muestra un disco de  $\varnothing = 1$  cm entre el borde y el centro de cada colonia. Cada disco se colocó en 10 ml de una solución de Tween 80 (0,1 %), se agitó durante 15 min y los esporos se contaron en cámara de Neubauer.

Las colonias fueron de mayor tamaño en APD alcanzando un  $\varnothing = 7,66 \pm 0,01$  cm, sin presentar diferencias significativas entre aislamientos. Se encontraron diferencias significativas en el crecimiento en AC y AQS y en los halos de hidrólisis siendo mayor para *P. lilacinum* # 876. En el medio AQSPB no hubo diferencias. El recuento de esporos fue muy variable.

### **Evaluación de la producción de conidias de *P. lilacinum* # 876 sobre arroz.**

Además de los cultivos en frascos (descritos en el informe anterior), *P. lilacinum* fue cultivado sobre granos de arroz en bolsas de plásticas termoresistentes de polipropileno. Se utilizaron bolsas conteniendo 30 g de arroz y 30 ml de agua destilada, autoclavadas (15 min, 121°C). Las bolsas se inocularon con una suspensión conidial ajustada a una concentración de  $1 \times 10^7$  conidias/g de arroz y se incubaron (30°C, 21 días). Se tomaron muestras por duplicado periódicamente a partir del día 5 de cultivo. Las variables analizadas fueron: peso total, peso seco, pH, número, pureza y viabilidad de conidias. El procesamiento de las muestras, previa homogenización del material fermentado, fue el siguiente:

**pH:** se colocó 1 g de material en un vaso de precipitado de 25 ml al que se le añadieron 10 ml de AD. Se agitó durante 15 min y se midió el pH correspondiente.

**Evaluación del número de conidios/g de biopreparado:** Un gramo de muestra se suspendió en 10 ml de solución de Tween 80 al 0,1% y se mezcló vigorosamente en agitador Vortex por 15 min para lograr el desprendimiento de las conidias. De la suspensión resultante se realizaron las diluciones necesarias para recuento en cámara.

**Viabilidad:** Se evaluó la capacidad de germinación de las conidias partir de una muestra de 100  $\mu$ l de una suspensión conidial sembrada sobre una capa de agar-agua 1% en porta objetos e incubada en cámara húmeda durante 16-18 h. El porcentaje de conidias germinados fue determinado por conteo al microscopio óptico (40 x).

**Pureza:** Se evaluó la pureza de la cepa a partir de una muestra de 100  $\mu$ l, sembrada en PDA e incubada a temperatura ambiente durante 3-5 días.

Los cambios de peso y de pH fueron concordantes con un buen crecimiento de *P. lilacinum*. El número de conidias aumentó hasta el día 21, alcanzando un valor de  $3,3 \times 10^9$  conidias/g de arroz. No hubo evidencias de contaminación y la viabilidad fue del 100%.

### **Evaluación comparativa de la producción de esporos de *P. lilacinum* # 876 sobre diferentes productos y subproductos agroindustriales.**

Se utilizaron los siguientes sustratos: arroz entero (AE), cáscara de arroz (CA), afrecho de arroz (AA), residuo de sustrato de cultivo de *Pleurotus ostreatus* (RP), cáscara de langostino (RL) y aserrín (A). Los tres primeros fueron suministrados por la estación experimental de la Fac. de Ciencias Agrarias y Forestales. El AE y AA fueron utilizados sin tratamiento previo, la CA se pasó por un tamiz malla 18 y se utilizó la fracción retenida en el tamiz. El RP fue suministrado por un establecimiento productor (La Plata) y el RL por INTI (Mar del Plata). Ambos fueron secados, molidos y tamizados antes de ser utilizados. El A de álamo y/o sauce (aserraderos de Berisso) sólo fue secado. Para el cultivo se utilizaron placas de Petri ( $\varnothing = 6$  cm) conteniendo 2 g de cada uno de los sustratos humedecidos con 2,5 ml de agua destilada. Las placas se esterilizaron en autoclave (15 min, 121°C). Las placas inoculadas con una

suspensión conidial de modo de obtener  $1 \times 10^7$  /g peso húmedo fueron incubadas (30°C, 21 días). Se tomaron muestras por triplicado periódicamente a partir del día 5 de cultivo. Las variables analizadas fueron: peso total, peso seco, pH, producción de quitinasas, número, pureza y viabilidad de conidias. El procesamiento de las muestras para la extracción enzimática fue el siguiente:

Producción de quitinasas: Se mezcló 1 g de material con 8 ml de AD. Se agitó durante 15 min y se midió el pH correspondiente. A la suspensión anterior se le agregaron 8 ml de buffer acetato de sodio (100 mM, pH = 5,5) con NaCl 1 M. Se agitó 15 min para la extracción enzimática. Se llevó a volumen (20 ml) con buffer acetato de sodio 50 mM (pH = 5,5) con NaCl 0,5 M. Posteriormente se filtró con tela de serigrafía, se centrifugaron alícuotas de 1 ml (5.000 rpm, 10 min) y se congelaron alícuotas de 0,8 ml hasta su procesamiento.

Bajo las condiciones ensayadas la producción de conidias fue mayor en el medio AA alcanzando un valor de  $4,07 \times 10^{10}$  conidios/g. Para el resto de los sustratos fue de  $7,5 \times 10^9$ ,  $4,69 \times 10^9$ ,  $3,59 \times 10^9$  y  $1,94 \times 10^8$ /g para AE, CA, RP y A, respectivamente. En RL no se registró crecimiento.

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

Se utilizaron muestras de raíces agalladas (tomate) provenientes de quintas hortícolas de la zona para reiniciar el cultivo de fitonematodos en invernáculo (rehabilitado en abril 2013). Las raíces fueron observadas bajo microscopio estereoscópico Leica EZ5 (10x-50x). Se determinó la presencia masas de huevos y de hembras maduras de *Nacobbus aberrans*.

Se utilizaron 4 macetas plásticas N° 16 ( $\varnothing = 16$  cm x 17 cm de altura, capacidad 3 l), en las que se colocó sustrato estéril formado por suelo y turba (30-50 %) y se transplantó una plántula de tomate variedad Platense de aproximadamente un mes de crecimiento. Una semana después del trasplante se inoculó una masa de huevos/maceta de la especie identificada, en un orificio de aproximadamente 2 cm de profundidad, paralelo a la plántula, y se cubrió inmediatamente con suelo para evitar la desecación. Las plántulas inoculadas se dejaron crecer en invernáculo bajo condiciones controladas de temperatura ( $26 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y fotoperiodo (14 h luz/10 h oscuridad) regándose 1 vez/día. La evaluación de los cultivos se realiza periódicamente entre los 35 y 60 días post-inoculación.

Las variables analizadas son: el índice de agallamiento, el número de masas de huevos, el número de huevos/masa de huevo y el incremento en la población del nematodo.

## 8. OTRAS ACTIVIDADES

### 8.1. Publicaciones. Comunicaciones

- **Biotechnological processes for chitin recovery out of crustacean waste: A mini review.** Gortari, M.C.; Hours, R.A. *Electronic Journal of Biotechnology*. ISSN: 07017-3458. DOI: 10.2225/vol16-issue3-fulltext-10.

### Presentaciones a Congresos

- Quinto Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones (V EnReBB). Sociedad Argentina de Biocatálisis y Biotransformaciones (SAByB). La Plata, 5 al 8 de noviembre 2012. Posters:
  - 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 Cuero (FLAQTIC). Montevideo, Uruguay, 9-11 de octubre de 2012. "Enzimas fúngicas: determinación de parámetros de crecimiento en cultivos sumergidos". Galarza B., Garro M., Bonfranceschi A., Hours R., Cantera C. (posters).
- XXXII Congreso Mundial IULTCS. Estambul. Turquía, 29-31 de mayo de 2013. "From a problem of solid waste to a useful product in beamhouse process". Galarza B., Garro M.; Gortari, C.; Bonfranceschi A., Hours R., Cantera C (publicación en formato DVD).

### Enviadas y aceptadas:

- VIII Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología. REDBIO Argentina 2013. 18-22 de noviembre, Mar del Plata.
  - Producción de conidias del hongo nematofago *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876 sobre arroz. Gortari, M.C., Nico, A.; Hours, R.
  - Producción de conidias del hongo nematofago *Purpureocillium lilacinum* LPSC # 876 sobre productos y subproductos agroindustriales. Gortari, M.C.; Galarza, B.; Nico, A.; Hours, R.
- Congreso en Docencia Universitaria. Universidad de Buenos Aires. 17 y 18 de octubre 2013

La motivación de los estudiantes y la agenda periodística en el aula de Epidemiología y Salud Pública Básica (Cs. Veterinarias). Gortari, M.C.; Zubirí, K.

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

**Seminario de Educación a Distancia: "Epidemiología para la acción"** organizado por la Cátedra Libre Germán Abdala perteneciente a la Prosecretaría de Arte y Cultura de la Secretaría de Extensión Universitaria de la UNLP.

### 8.3. Asistencia a reuniones científicas

- **Agosto 2012: Mes del Chagas.**  
Proyecto de Extensión: ¿De que hablamos cuando hablamos de Chagas? UNLP
- **IV Congreso Nacional y III Congreso Internacional de Enseñanza de las Ciencias Agropecuarias.** 9-11 septiembre de 2012, La Plata.
- **V Encuentro Regional de Biocatálisis y Biotransformaciones. V EnReBB.**  
5-8 noviembre de 2012, La Plata.
- **Terceras Jornadas de Agricultura Familiar.**  
Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP. 8 y 9 agosto 2013.  
Carga horaria: 25 h.

### 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 de exámenes parciales y EFI (Examen final integrador).
- Epidemiología y Salud Pública Básica (Segundo cuatrimestre de segundo año)  
APO: 2,5 h/semana  
Horario atención alumnos: 1 h/semana  
Evaluaciones: Corrección de exámenes parciales y EFI (Examen final integrador)
- Docencia de post-grado:

Carrera de Especialización en Diagnóstico Veterinario de Laboratorio, Fac. Cs. Veterinarias, UNLP.

Participación en: "Modulo Bioestadística y Epidemiología aplicada a las pruebas diagnosticas". 7 y 8 septiembre 2012.

Especialización en Docencia Universitaria

Presentación 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: Dra. Mariana Sanmartino.

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

Participación en proyectos de extensión



- “¿De que hablamos cuando hablamos de Chagas? Estrategias y recursos didácticos para abordar el tema en diferentes contextos educativos”. Dir: Cecilia Mordegli, Codir: Gerardo Marti, Coord.: Mariana Sanmartino. UNLP (2011-2012) (2012-2013).