

Comodoro Rivadavia, 22 de noviembre de 2005.-

**VISTO:**

La nota entrada a FCN. N° 3586/05 presentada por el Dr. Héctor M. Álvarez mediante la cual eleva el proyecto de Práctica Profesional a elección para la carrera de Bioquímica, y

**CONSIDERANDO:**

- Que la misma ha sido avalada por el Jefe del Departamento de Bioquímica.
- Que ha seguido el camino crítico correspondiente.
- Que cumple con las Resoluciones CAFCN. N° 234/92 y 057/99.
- Que el tema fue tratado en la IV sesión ordinaria del año en curso.

**POR ELLO, EL CONSEJO ACADÉMICO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
RESUELVE**

Art. 1º) Aprobar las **Prácticas Profesionales** propuestas por el Dr. Héctor M. Álvarez, en el marco de la Práctica Profesional a elección de la carrera de Bioquímica que se detallan a continuación: **“Aislamiento y caracterización de bacterias marinas degradadoras de fluoreno con capacidad de acumular lípidos de reserva”** y **“Aislamiento y caracterización de bacterias marinas degradadoras de antraceno con capacidad de acumular lípidos de reserva”** cuyos contenidos figuran en el Anexo que forma parte integrante de la presente resolución.

Art. 2º) Regístrese, cúrsense las comunicaciones pertinentes, notifíquese a quien corresponda y cumplido, archívese.-

**RESOLUCIÓN CAFCN. N° 583/05.-**

  
**MSC SUSANA PERALES**  
Sec. Académica  
Facultad de Ciencias Naturales  
U.N.P.S.J.B.

  
**Lic. ADOLFO GENINI**  
**DECANO**  
Fac. De Ciencias Naturales  
U.N.P.S.J.B.

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05.-**

Práctica Profesional a Elección de Bioquímica- 2006

Cátedra Genética- Depto de Bioquímica

Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT)

Responsable: Dr. Héctor M. Alvarez (Prof. Adjunto Cátedra de Genética)

Colaboradora: Bioq. Roxana A. Silva (Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Genética)

**Título: Aislamiento y caracterización de bacterias marinas degradadoras de fluoreno con capacidad de acumular lípidos de reserva**

**Objetivos:**

Objetivo formal: el objetivo del presente trabajo es que el alumno se inserte y realice metodologías estándares utilizadas en el desarrollo del proyecto de investigación en curso en la Cátedra de Genética.

Objetivo específico: Aislar y caracterizar bacterias de sedimento marino con capacidad de degradar fluoreno y de transformar hidrocarburos poliaromáticos en lípidos de reserva.

Palabras claves: bacterias actinomycetes marinas, hidrocarburos poliaromáticos, triacilglicéridos.

**Introducción:**

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) se encuentran en el ambiente natural ya sea como resultado de la contaminación con petróleo u otras mezclas de hidrocarburos o como resultado de combustiones incompletas de materia orgánica. Es frecuente encontrar suelos o sedimentos marinos contaminados con PAHs en la región como producto de contaminaciones crónicas por la intensa actividad petrolera de la zona. El proceso más importante de eliminación de PAHs en el ambiente es la degradación microbiana. La degradación de PAHs en el ambiente es fuertemente afectada por la baja biodisponibilidad de estos compuestos, debido a su baja solubilidad en agua y a su tendencia a adsorberse a la materia orgánica o las partículas de suelo o sedimento. Este proceso denominado “aging” determina el secuestro del contaminante por partición en o dentro de la materia orgánica e inorgánica y su difusión entre microporos tridimensionales de las partículas de suelo. Los PAHs de menor peso molecular como el naftaleno, fenantreno o fluoreno, son compuestos relativamente fáciles de degradar por diferentes microorganismos que poseen las enzimas necesarias para su catabolismo, sin embargo, su recalcitrancia se debe a su baja biodisponibilidad en el ambiente. Existen algunos mecanismos microbianos tendientes a aumentar la biodisponibilidad de los PAHs en el ambiente y que contribuyen a su eliminación. Entre estos, el más eficiente es el que utilizan las bacterias que poseen una superficie celular muy hidrofóbica, que favorece la adherencia de las células al contaminante formando un biofilm, determinando una mayor concentración del contaminante en la proximidad de la célula y permitiendo así su degradación. Las bacterias del grupo de los actinomycetes que contienen ácidos micólicos en su superficie celular, por ejemplo de los géneros *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, poseen este mecanismo. Por estas razones, en este trabajo se proyecta el aislamiento de bacterias actinomycetes de sedimento marinos de la

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05.-**

costa patagónica y su caracterización posterior respecto de su capacidad de degradar fluoreno y de transformarlo en lípidos intracelulares. Para tal fin, se aplicará un método de aislamiento concebido para la recuperación de bacterias con una superficie muy hidrofóbica con capacidad de adherirse a los PAHs y de degradarlos (Bastiaens et al. 2000. Appl. Environ. Microbiol. 66:1834-1843).

**Bibliografía**

La Cátedra cuenta con una variedad de libros del área que servirán de fuente de conocimientos básicos sobre el tema. Además se cuenta con bibliografía específicamente relacionada con el tema de estudio representada por artículos científicos de revistas tales como: Applied and Environmental Microbiology, Journal of Bacteriology, Archives of Microbiology, Applied Microbiology and Biotechnology, entre otros.

**Metas:**

- 1- Optimizar un método de aislamiento de bacterias actinomicetes acumuladoras de TAG con capacidad de degradar fluoreno.
- 2- Seleccionar una cepa con las características mencionadas arriba.
- 3- Caracterizar la cepa seleccionada respecto de su potencial de degradación de diferentes hidrocarburos.
- 4- Caracterizar la cepa seleccionada respecto de su capacidad de sintetizar y acumular TAG a partir de fluoreno.
- 5- Caracterizar taxonómicamente la cepa seleccionada.
- 6- Análisis de los resultados y conclusiones.

**Actividades:**

- 1- Elección del lugar de muestreo y recolección de la muestra de sedimento marino.
- 2- Análisis químico de la muestra para la determinación de la presencia de hidrocarburos.
- 3- Aislamiento de cepas marinas degradadoras de fluoreno.
- 4- Determinación del perfil de degradación de hidrocarburos de la cepa seleccionada.
- 5- Análisis de los lípidos de reserva acumulados por la cepa seleccionada.
- 6- Identificación taxonómica de la cepa seleccionada mediante métodos bioquímicos y moleculares.
- 7- Análisis de los resultados, conclusiones y preparación del informe.

**Materiales y Métodos:**

Materiales:

La Cátedra cuenta con los materiales, equipos y soporte financiero necesarios para la realización del presente trabajo. La presente Práctica se realizará en el marco del subsidio obtenido para el proyecto PIP N° 6205-CONICET.

Métodos:

*Muestreo:* se realizará la toma de muestra de sedimento marino intermareal utilizando recipientes estériles.

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05.-**

*Análisis químico de la muestra:* la muestra de sedimento será acondicionada adecuadamente y será enviada para su análisis a un laboratorio especializado.

*Aislamiento de cepas marinas degradadoras de fluoreno:* se utilizará un método de aislamiento por enriquecimiento de bacterias con superficie hidrofóbica, como las que poseen habitualmente los actinomycetes no esporulados, según el método descrito por Bastiaens et al. (2000. Appl. Environ. Microbiol. 66:1834-1843).

*Determinación del perfil de degradación de hidrocarburos:* se llevará a cabo mediante las técnicas de siembra en medio sólido conteniendo el hidrocarburo a ensayar como única fuente de carbono y energía y mediante la mineralización de los hidrocarburos. Estos métodos se vienen realizando en los proyectos de investigación actuales del grupo.

*Análisis de los lípidos de reserva:* se llevarán a cabo mediante extracción de lípidos totales y separación por cromatografía en capa delgada y por cromatografía gaseosa previa metanólisis, según trabajos previos (Alvarez et al. 1996. Arch. Microbiol. 165:377-386).

*Identificación taxonómica de la cepa:* se llevará a cabo teniendo en cuenta características morfológicas de las células por microscopía, por características bioquímicas y por secuenciamiento del gen ARNr 16S.

**Cronograma:**

*Duración:* 16 semanas.

	<b>Semanas</b>															
<b>Actividades</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>1</b>	x															
<b>2</b>		x	x													
<b>3</b>		x	x	x	x	x										
<b>4</b>							x	x	x							
<b>5</b>									x	x	x	x				
<b>6</b>										x	x	x	x			
<b>7</b>												x	x	x	x	x

*Cantidad de alumnos:* 1 (uno)

*Cuatrimestre:* primer cuatrimestre

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05.-**

Práctica Profesional a Elección de Bioquímica- 2006

Cátedra Genética- Depto de Bioquímica

Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT)

Responsable: Dr. Héctor M. Alvarez (Prof. Adjunto Cátedra de Genética)

Colaboradora: Bioq. Roxana A. Silva (Jefe de Trabajos Prácticos Cátedra de Genética)

**Título: Aislamiento y caracterización de bacterias marinas  $\square$ egradadoras de antraceno con capacidad de acumular lípidos de reserva**

**Objetivos:**

Objetivo formal: el objetivo del presente trabajo es que el alumno se inserte y realice metodologías estándares utilizadas en el desarrollo del proyecto de investigación en curso en la Cátedra de Genética.

Objetivo específico: Aislar y caracterizar bacterias de sedimento marino con capacidad de degradar antraceno y de transformar hidrocarburos poliaromáticos en lípidos de reserva.

Palabras claves: bacterias actinomycetes marinas, hidrocarburos poliaromáticos, triacilglicéridos.

**Introducción:**

Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) se encuentran en el ambiente natural ya sea como resultado de la contaminación con petróleo u otras mezclas de hidrocarburos o como resultado de combustiones incompletas de materia orgánica. Es frecuente encontrar suelos o sedimentos marinos contaminados con PAHs en la región como producto de contaminaciones crónicas por la intensa actividad petrolera de la zona. El proceso más importante de eliminación de PAHs en el ambiente es la degradación microbiana. La degradación de PAHs en el ambiente es fuertemente afectada por la baja biodisponibilidad de estos compuestos, debido a su baja solubilidad en agua y a su tendencia a adsorberse a la materia orgánica o las partículas de suelo o sedimento. Este proceso denominado “aging” determina el secuestro del contaminante por partición en o dentro de la materia orgánica e inorgánica y su difusión entre microporos tridimensionales de las partículas de suelo. Los PAHs de menor peso molecular como el naftaleno, fenantreno o fluoreno, son compuestos relativamente fáciles de degradar por diferentes microorganismos que poseen las enzimas necesarias para su catabolismo, sin embargo, su recalcitrancia se debe a su baja biodisponibilidad en el ambiente. Existen algunos mecanismos microbianos tendientes a aumentar la biodisponibilidad de los PAHs en el ambiente y que contribuyen a su eliminación. Entre éstos, el más eficiente es el que utilizan las bacterias que poseen una superficie celular muy hidrofóbica, que favorece la adherencia de las células al contaminante formando un biofilm, determinando una mayor concentración del contaminante en la proximidad de la célula y permitiendo así su degradación. Las bacterias del grupo de los actinomycetes que contienen ácidos micólicos en su superficie celular, por ejemplo de los géneros *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, poseen este mecanismo. Por estas razones, en este trabajo se proyecta el aislamiento de bacterias actinomycetes de sedimento marinos de la

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05.-**

costa patagónica y su caracterización posterior respecto de su capacidad de degradar antraceno y de transformarlo en lípidos intracelulares. Para tal fin, se aplicará un método de aislamiento concebido para la recuperación de bacterias con una superficie muy hidrofóbica con capacidad de adherirse a los PAHs y de degradarlos (Bastiaens et al. 2000. Appl. Environ. Microbiol. 66:1834-1843).

**Bibliografía**

La Cátedra cuenta con una variedad de libros del área que servirán de fuente de conocimientos básicos sobre el tema. Además se cuenta con bibliografía específicamente relacionada con el tema de estudio representada por artículos científicos de revistas tales como: Applied and Environmental Microbiology, Journal of Bacteriology, Archives of Microbiology, Applied Microbiology and Biotechnology, entre otros.

**Metas:**

- 7- Optimizar un método de aislamiento de bacterias actinomycetes acumuladoras de TAG con capacidad de degradar antraceno.
- 8- Seleccionar una cepa con las características mencionadas arriba.
- 9- Caracterizar la cepa seleccionada respecto de su potencial de degradación de diferentes hidrocarburos.
- 10- Caracterizar la cepa seleccionada respecto de su capacidad de sintetizar y acumular TAG a partir de antraceno.
- 11- Caracterizar taxonómicamente la cepa seleccionada.
- 12- Análisis de los resultados y conclusiones.

**Actividades:**

- 8- Elección del lugar de muestreo y recolección de la muestra de sedimento marino.
- 9- Análisis químico de la muestra para la determinación de la presencia de hidrocarburos.
- 10- Aislamiento de cepas marinas degradadoras de antraceno.
- 11- Determinación del perfil de degradación de hidrocarburos de la cepa seleccionada.
- 12- Análisis de los lípidos de reserva acumulados por la cepa seleccionada.
- 13- Identificación taxonómica de la cepa seleccionada mediante métodos bioquímicos y moleculares.
- 14- Análisis de los resultados, conclusiones y preparación del informe.

**Materiales y Métodos:**

Materiales:

La Cátedra cuenta con los materiales, equipos y soporte financiero necesarios para la realización del presente trabajo. La presente Práctica se realizará en el marco del subsidio obtenido para el proyecto PIP N° 6205-CONICET.

Métodos:

*Muestreo:* se realizará la toma de muestra de sedimento marino intermareal utilizando recipientes estériles.

**ANEXO – Cpde. R.CAFCN. N° 583/05**

*Análisis químico de la muestra:* la muestra de sedimento será acondicionada adecuadamente y será enviada para su análisis a un laboratorio especializado.

*Aislamiento de cepas marinas degradadoras de antraceno:* se utilizará un método de aislamiento por enriquecimiento de bacterias con superficie hidrofóbica, como las que poseen habitualmente los actinomicetes no esporulados, según el método descrito por Bastiaens et al. (2000. Appl. Environ. Microbiol. 66:1834-1843).

*Determinación del perfil de degradación de hidrocarburos:* se llevará a cabo mediante las técnicas de siembra en medio sólido conteniendo el hidrocarburo a ensayar como única fuente de carbono y energía y mediante la mineralización de los hidrocarburos. Estos métodos se vienen realizando en los proyectos de investigación actuales del grupo.

*Análisis de los lípidos de reserva:* se llevarán a cabo mediante extracción de lípidos totales y separación por cromatografía en capa delgada y por cromatografía gaseosa previa metanólisis, según trabajos previos (Alvarez et al. 1996. Arch. Microbiol. 165:377-386).

*Identificación taxonómica de la cepa:* se llevará a cabo teniendo en cuenta características morfológicas de las células por microscopía, por características bioquímicas y por secuenciamiento del gen ARNr 16S.

**Cronograma:**

*Duración:* 16 semanas.

	<b>Semanas</b>															
<b>Actividades</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>1</b>	x															
<b>2</b>		x	x													
<b>3</b>		x	x	x	x	x										
<b>4</b>							x	x	x							
<b>5</b>									x	x	x	x				
<b>6</b>										x	x	x	x			
<b>7</b>												x	x	x	x	x

*Cantidad de alumnos:* 1 (uno)

*Cuatrimestre:* primer cuatrimestre