

Carrera de Bioquímica
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS

Práctica de Investigación Bioquímica (optativa)

Código de la Materia: 1346

Carga horaria: 50 horas

Profesor –Investigador : Gabriela Salvador

Asistente/Ayudante de docencia: Ana Carolina Ronda

Asignatura (s) Obligatoria (s) Aprobada /Cursada(s): Química Biológica I (aprobada), Química Biológica II (cursada), genética molecular (cursada)

Lugar de Trabajo (Laboratorio /Instituto): Laboratorio de Química Marina, Instituto Argentino de Oceanografía (IADO).

Título del Proyecto de Investigación: **Caracterización bioquímica de ostras invasoras en el sudoeste Bonaerense**

Código Proyecto: El presente proyecto está enmarcado en un Proyecto IMPACTAR (Desafío número 5), siendo la Dra. Sandra Fiori Investigadora responsable del mismo, y la Dra. Ana Carolina Ronda colaboradora del mismo.

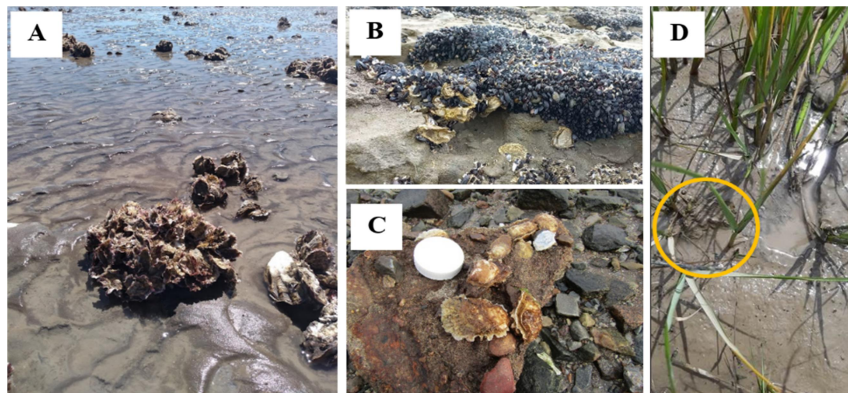
Resumen del Proyecto (no mayor de 250 palabras)

La ostra del Pacífico (*Magallana gigas*) es una especie originaria de la costa asiática que fue introducida ilegalmente en nuestro país en la década del 80. Durante el año 2010 unos pocos ejemplares fueron detectados dentro del estuario de Bahía Blanca y, desde entonces, su número ha aumentado extendiéndose sobre la costa del sudoeste Bonaerense y generando serios problemas ambientales y sociales. El objetivo de este proyecto es caracterizar bioquímicamente a la ostra del Pacífico para buscar soluciones a desafíos de interés público, planteados por organismos estatales. El conocimiento de la bioquímica de esta especie invasora permitirá establecer diferentes programas que tendrán como objetivo frenar o mitigar los procesos de degradación ambiental generados por su presencia, promoviendo la conservación de los recursos naturales locales y la calidad de vida de los habitantes. Se trabajará con *pooles* de muestras previamente obtenidas (2021) en diferentes sitios de muestreo dentro del Estuario de Bahía Blanca, Villa del Mar, Arroyo Parejas, y Pehuén Co. Se analizarán diferentes parámetros biológicos de la ostra, como peso de la concha, tejidos blandos, e índice de condición. Asimismo, a partir de los homogenados de los tejidos blandos, se determinarán diferentes parámetros bioquímicos como niveles de proteínas, lípidos, glúcidos, enzimas metabólicas y estrés oxidativo. Los resultados obtenidos se relacionarán con las características ambientales de cada sitio de muestreo.

Plan de trabajo (resumido)

El alumno se introducirá en el estudio de la bioquímica ambiental. Aprenderá en qué consisten los muestreos ambientales de campo para realizar caracterizaciones biológicas en los organismos.

Específicamente en lo que concierne a este plan, en la caracterización de diferentes parámetros bioquímicos de la ostra *Magallana gigas* relacionados con el metabolismo y el estrés oxidativo de la especie. El alumno también pondrá en práctica el conocimiento



Ostras del Pacífico adheridas a distintos tipos de sustratos A) fondos fangosos en Arroyo Pareja, B) fondos duros naturales Pehuén Co, C) fondos duros Arroyo Parejas, D) retenidas entre la vegetación de las marismas de Villa del Mar (Fotos Sandra Fiori).

adquirido durante la carrera en el procedimiento de diferentes técnicas de laboratorio focalizadas en la investigación de muestras biológicas obtenidas en el ambiente. Desarrollará variables técnicas como: realización de homogenados, fraccionamiento subcelular, ensayos colorimétricos para la determinación de macromoléculas, determinación de la actividad de diversas enzimas. Asimismo aprenderá cómo aplicar los conocimientos adquiridos en estadística para relacionar los parámetros bioquímicos determinados, las variables ambientales y relacionarlos con las características de los sitios de muestreo. Finalmente, se introducirá al alumno en la redacción de manuscritos de investigación.

Descripción de las Actividades a realizar:

Para cada especie se realizarán tres *pools* de al menos 10 individuos por cada intervalo de talla y cada sitio de muestreo. Se extraerá el tejido blando el cual será almacenado a -20°C hasta su utilización. Los tejidos congelados serán pesados y homogenizados en frío (4°C) con una solución de buffer fosfato 50 mM, conteniendo EDTA 0,5 mM (1:10 peso:volumen). Se realizarán centrifugaciones diferenciales para obtener las distintas fracciones subcelulares de acuerdo al análisis a realizar y se almacenarán a -80°C hasta su utilización. Las actividades enzimáticas y biomoléculas serán referidas a los mg de proteínas del tejido (Lowry et al. 1951). Las enzimas y biomoléculas metabólicas a determinar serán: Alanina aminotransferasa, Aspartato aminotransferasa, Lactato deshidrogenasa, Fosfatasa alcalina, Creatina quinasa, glucógeno, triglicéridos y lípidos totales serán determinados por espectrofotometría utilizando kits comerciales y siguiendo las instrucciones del fabricante (Wiener Lab.) (Ronda et al. 2019; Recabarren et al. 2019). Las enzimas y biomoléculas indicadoras de estrés oxidativo serán determinadas según técnicas descritas en la bibliografía: Glutathion S transferasa (Jakoby 1985), Superóxido dismutasa (Marklund and Marklund 1974), Glutathion reductasa (Carlberg and Manerrik 1985), Glutathion peroxidasa (Lawrence y Burk 1976), peroxidación lipídica (Ronda et al. 2018; Recabarren et al. 2019), oxidación proteica (Levine et al. 1990), contenido de glutathion reducido (Ellman 1959).

Análisis de datos / trabajo de gabinete incluirá el procesamiento estadístico de los datos, su sistematización y tabulación para realizar un manejo simultáneo de la información relevada. Mediante diferentes análisis estadísticos se procederá a contrastar las hipótesis planteadas. Específicamente, las variaciones de la actividad alimentaria, composición de la dieta y nivel trófico serán analizadas mediante la implementación de modelos generalizados (Zuur et al. 2009). Los índices calculados serán relacionados con la cantidad y tipo de MPs presentes en los estómagos, mediante la aplicación de pruebas estadísticas (análisis de varianza multivariados, modelos aditivos generalizados) (Crawley 2012). Las relaciones entre las concentraciones de los metabolitos y actividades enzimáticas se realizarán mediante análisis de correlación de Pearson o Spearman. Para todas las pruebas estadísticas se utilizará un nivel de significancia $p < 0,05$.

Cuatrimestre: Primero y/o segundo
Primer cuatrimestre

Cupo de alumnos: 1

Carga horaria semanal: A determinar con el alumno de acuerdo a la carga horaria de las materias que esté cursando. Se estiman 4 hs por semana.

Modalidad de Evaluación:

- Entrega de un informe con formato de trabajo científico
- Exposición Oral: *Se realizará en presencia de todos los alumnos de la materia y los profesores respectivos y al menos un integrante de la CCB (hasta 15 minutos)*