

## **INFORME CIENTIFICO DE BECA**

Legajo N°:

**BECA DE** Estudio 2013

**PERIODO** Abril 2013- Marzo 2014

**1. APELLIDO:** Oyarburo

**NOMBRES:** Natalia Soledad

**Dirección Particular: Calle:**

**Localidad:** Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:**

**Dirección electrónica (donde desea recibir información):** nataliaoyarburo@gmail.com

**2. TEMA DE INVESTIGACIÓN** (Debe adjuntarse copia del plan de actividades presentado con la solicitud de Beca)

**PARTICIPACIÓN DE LA VÍA DEL ÁCIDO SALICÍLICO (SA) EN LA RESPUESTA DE DEFENSA INDUCIDA EN PAPA POR FOSFITOS FRENTE AL ESTRES POR UV-B**

**3. OTROS DATOS** (Completar lo que corresponda)

**BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO:** *Fecha de iniciación:* Abril 2013

**2º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**2º AÑO:** *Fecha de iniciación:*

**4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS**

*Universidad y/o Centro:* Universidad Nacional de Mar del Plata

*Facultad:* Cs Exactas y Naturales

*Departamento:* Instituto de Investigaciones Biológicas

*Cátedra:*

*Otros:*

*Dirección: Calle:* Funes N°: 3250

*Localidad:* Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:** 0223-4753030

**5. DIRECTOR DE BECA**

*Apellido y Nombres:* Olivieri Florencia Pia

*Dirección Particular: Calle:*

*Localidad:* Mar del Plata **CP:** 7600 **Tel:**

*Dirección electrónica:* folivier@mdp.edu.ar

**6. EXPOSICIÓN SINTÉTICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.** (Debe exponerse la orientación impuesta a los trabajos, técnicas empleadas, métodos, etc., y dificultades encontradas en el desarrollo de los mismos, en el plano científico y material).

El objetivo general del estudio realizado en el transcurso de la presente beca fue evaluar la participación de compuestos relacionados con la vía del ácido salicílico (SA) en la respuesta de defensa inducida en papa por fosfitos (Phi) frente a estreses bióticos y abióticos, en particular, la infección por *Streptomyces scabies* y la radiación ultravioleta (UV-B), respectivamente.

Durante este primer año, el estudio bioquímico- molecular se realizó en el sistema de estrés abiótico (UV-B), y se realizaron estudios fitopatológicos del efecto del Phi en el patosistema papa-*Streptomyces scabies*.

Se determinó la expresión de genes marcadores de la vía del ácido salicílico, y la actividad y contenido de enzimas relacionadas con dicha vía, en plantas tratadas y no con Phi y expuestas o no a UV-B. Para llevar a cabo los objetivos, trabajamos con plantas de papa de variedad industrial, las cuales se trataron por spray foliar con una solución 1% fosfito de potasio (KPhi) al inicio de la tuberización. Tres días después, se sometieron a radiación UV-B por 2hs diarias durante 0, 3, 5 y 6 días. Como control se utilizaron plantas que fueron sometidas solo a radiación UV-B, tratadas con KPhi solamente y que no recibieron tratamiento.

En cuanto al análisis fenotípico (objetivo 1), se midió de forma preliminar el índice de verdor de hojas de plantas sometidas a los distintos tratamientos utilizando la herramienta SPAD (medidor del contenido de clorofila). El índice de verdor es una medida de la capacidad fotosintética de la hoja. A partir de dicha medición, se observó a 9 y 40 días post exposición a la radiación UV-B que el tratamiento con KPhi evita la disminución del índice de verdor causada por la radiación UV-B. Actualmente estamos creciendo plantas para analizar otros parámetros fenotípicos como marchitamiento, tiempo a la senescencia, producción de tubérculos entre otros, y repetir la medición del índice de verdor.

A su vez, se realizó la cuantificación de enzimas relacionadas con el estrés oxidativo mediante tinciones diferenciales en geles de poliacrilamida (objetivo 3 del plan de trabajo). Para ello, se realizaron extractos de proteínas solubles de hojas de plantas de papa, los cuales se separaron en geles de poliacrilamida y se tiñieron diferencialmente para determinar la actividad de Superóxido dismutasa (SOD), Guaiacol-peroxidasas (POD) y Ascorbato peroxidasas (APX). Observamos una expresión diferencial de SOD y POD, las cuales aumentaron en plantas pretratadas con KPhi y luego expuestas a UV-B, respecto al control o solo tratado con UV-B. Además, se observó un aumento de expresión de las mismas con el aumento de los días de exposición a la radiación UV-B. De forma preliminar, se realizó un Isoelectroenfoco en un amplio rango de pH para separar e identificar las isoformas de POD que se inducen diferencialmente. En el mismo, observamos la inducción de isoformas POD ácidas, obteniendo un resultado que concuerda con el observado en el gel de actividad de poliacrilamida. El isoelectroenfoco se repetirá acotando los pHs de la corrida hacia los pHs ácidos para lograr una separación mas precisa y una posterior identificación de las mismas.

La actividad de APX se determinó en geles de poliacrilamida pero las 2 tinciones que realizamos no arrojaron un resultado positivo. Es decir, el gel se tiñó del color correspondiente pero no se observó ninguna banda de actividad. También se intentó determinar la actividad de dicha enzima a partir de extractos crudos mediante una técnica espectrofotométrica pero los resultados tampoco fueron claros. En estos momentos estamos probando un protocolo de extracción específico para esta enzima los cuales repetiremos la cuantificación de actividad ya sea en geles de actividad o en tubo.

Se cuantificó también el contenido de enzimas relacionadas con la patogénesis (PRPs), en particular  $\beta$ -1,3-glucanasas y quitinasas, mediante Western-blot. Se observó al igual que con

las enzimas antioxidantes, un aumento en el contenido de ambas enzimas en plantas pretratadas con KPhi y expuestas a UV-B con respecto a los controles.

Posteriormente, se determinó a nivel transcripcional la expresión del gen PR1, un marcador de la vía del ácido salicílico, mediante Real Time-PCR (objetivo 2). Para ello se realizó la extracción de RNA a partir de hojas de los distintos tratamientos con los cuales se realizó la síntesis de cDNA. Estos últimos se utilizaron como templados para las reacciones de Real Time-PCR utilizando primers específicos para dicho gen. Los resultados se encuentran aun en etapa de análisis, pero los mismos sugieren una inducción de PR1 inducida por KPhi.

Las figuras correspondientes a los resultados aquí expuestos pueden verse en el anexo de "Manuscrito en preparación"

Con respecto a los objetivos relacionados con el estrés biótico, se trabajó en la puesta a punto del sistema experimental. Trabajamos en primer lugar poniendo a punto la infección de rodajas de tubérculos de papa con diversas cepas de *Streptomyces scabies* las cuales poseen distinto grado de virulencia, y fijamos la cantidad óptima de inóculo con la cual infectar para obtener un resultado claro y preciso. Decidimos continuar trabajando con la cepa 9, la cual fue altamente virulenta y la infección era clara y bien diferenciable.

Una vez determinada la cepa con la cual realizar las infecciones y la cantidad de inóculo a utilizar, realizamos infecciones de rodajas de tubérculos pretratadas por spray con una solución 1% KPhi. Se utilizaron rodajas de tubérculos rociadas con agua como control. Observamos una disminución del porcentaje de la infección en tubérculos pretratados con KPhi con respecto a los tubérculos control.

Una de las limitantes por las cuales no se concretaron en un cien por ciento todos los objetivos de este proyecto, fue por la Licencia por maternidad que debí tomarme por el nacimiento de mi segundo hijo a mediados de este año.

## **7. TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS O PUBLICADOS EN EL PERIODO.**

**7.1. PUBLICACIONES.** Debe hacerse referencia, exclusivamente a aquellas publicaciones en la cual se halla hecho explícita mención de su calidad de Becario de la CIC. (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha aclaración no debe ser adjuntada. Indicar el nombre de los autores de cada trabajo, en el mismo orden que aparecen en la publicación, informe o memoria técnica, donde fue publicado, volumen, página y año si corresponde; asignándole a cada uno un número. En cada trabajo que el investigador presente -si lo considerase de importancia- agregará una nota justificando el mismo y su grado de participación.

**7.2. PUBLICACIONES EN PRENSA.** (Aceptados para su publicación. Acompañar copia de cada uno de los trabajos y comprobante de aceptación, indicando lugar a que ha sido remitido. Ver punto 7.1.)

**7.3. PUBLICACIONES ENVIADAS Y AUN NO ACEPTADAS PARA SU PUBLICACIÓN.** (Adjuntar copia de cada uno de los trabajos. Ver punto 7.1.)

**7.4. PUBLICACIONES TERMINADAS Y AUN NO ENVIADAS PARA SU PUBLICACIÓN.** (Adjuntar resúmenes de no más de 200 palabras)

Se adjunta un manuscrito en preparación en el cual se muestran los resultados obtenidos durante el periodo de beca

**7.5. COMUNICACIONES.** (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores)

**7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN.** (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)

**8. OTROS TRABAJOS REALIZADOS.** (Publicaciones de divulgación, textos, etc.)

**8.1. DOCENCIA**

**8.2. DIVULGACIÓN**

**8.3. OTROS**

**9. ASISTENCIA A REUNIONES CIENTÍFICAS.** (Se indicará la denominación, lugar y fecha de realización y títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas)

1. -Primer Congreso Internacional Científico y Tecnológico. La Plata, 19 y 20 de septiembre de 2013. *“Uso de fosfitos en plantas de papa frente al estrés por UV-B”*. **Oyarburo Natalia**, Machinandiarena M, Olivieri F.

2. -III Encuentro Latinoamericano y del Caribe de Biotecnología – REDBIO 2013. Mar del Plata, Noviembre 2013. *“El fosfito de potasio como agente protector contra el estrés por radiación UV-B”*. V Comunicación en forma de póster. **Oyarburo Natalia**, Feldman M, Machinandiarena M, Daleo G, Olivieri F, Andreu A.

**10. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** (Señalar características del curso o motivo del viaje, duración, instituciones visitadas y si se realizó algún entrenamiento)

**11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO**

**12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO**

Durante el primer cuatrimestre del 2013, la becaria realizó tareas de colaboración docente de aproximadamente 40hs en la cátedra de Química biológica I de la Facultad de Cs Exactas y Naturales UNMdP.

**13. 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)

Durante el periodo de beca se realizó la asistencia a Seminarios institucionales 2 veces a la semana a cargo de otros becarios e investigadores pertenecientes al Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB-CONICET) del cual depende la becaria.

**14. TÍTULO DEL PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PERIODO DE PRORROGA O DE CAMBIO DE CATEGORÍA** (Deberá indicarse claramente las acciones a desarrollar)

**PARTICIPACIÓN DE LA VÍA DEL ÁCIDO SALICÍLICO (SA) EN LA RESPUESTA DE DEFENSA INDUCIDA EN PAPA POR FOSFITOS FRENTE AL ESTRÉS POR UV-B**

---

**Condiciones de 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 Becario, la que deberá incluir:

- a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 14).
- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, deben agregarse al término del desarrollo del informe
- c. Informe del Director de tareas con la opinión del desarrollo del becario (en sobre cerrado).

---

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

.....  
Firma del Director

.....  
Firma del Becario