

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2015

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: BRENTASSI

NOMBRES: MARIA EUGENIA

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: Tolosa, La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información, que no sea "Hotmail"):

eubrenta@fcnym.unlp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Estudio de la interacción huésped-simbiontes obligados en poblaciones de auquenorrincos delfácidos y cicadélidos de importancia fitosanitaria asociados al agroecosistema maíz de la Provincia de Buenos Aires. Estudios biológicos y moleculares.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: ASISTENTE *Fecha:* 1 Septiembre 2009

ACTUAL: Categoría: ADJUNTO CON DIRECTOR *desde fecha:* 25 Marzo 2015. Acta N° 1419.

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad: FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

Departamento: DIVISION ENTOMOLOGIA

Cátedra:

Otros: CIDEFI (CIC-UNLP); LABORATORIO DE MORFOLOGIA VEGETAL, FCNYM-UNLP.

Dirección: Calle: PASEO DEL BOSQUE N°: S/N

Localidad: LA PLATA CP: 1900 Tel: 0221-4-25-6134

Cargo que ocupa: DOCENTE-INVESTIGADOR

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 2014 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2012 al 31-12-2013, para las presentaciones bianuales.

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

Apellido y Nombres: MARINO DE REMES LENICOV ANA. M

Dirección Particular: Calle:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica: amarino@fcnym.unlp.edu.ar

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

.....
Firma del Investigador

6. RESUMEN DE LA LABOR QUE DESARROLLA

Descripción para el repositorio institucional. Máximo 150 palabras.

Los hemípteros auquenorrincos son insectos de reconocida importancia fitosanitaria por los daños directos ocasionados durante su alimentación y por ser vectores de fitopatógenos. Estos insectos establecen relaciones mutualísticas con hongos y bacterias que complementan su dieta desbalanceada (savia del xilema o floema) y cumplen funciones esenciales para su desarrollo y supervivencia por lo que a nivel mundial se evalúa la posible aplicación de estos simbioses como controladores biológicos de estas plagas. La línea de investigación en desarrollo integra, por primera vez en el país, estudios moleculares y estudios biológicos en dos especies vectoras de importancia en la transmisión de patógenos al maíz: *Delphacodes kuscheli*, vector del virus del Mal de Río Cuarto del maíz (MRCV) y *Dalbulus maidis*, vector del Corn Stunt Spiroplasma (CSS). Se llevan a cabo estudios morfo-funcionales con el fin de: a) analizar el efecto de la disminución experimental de los endosimbiontes sobre el desempeño del huésped b) localizar a los endosimbiontes en los tejidos del huésped c) caracterizar morfológica y molecularmente a los organismos aislados.

El avance en esta línea de investigación generará información que permitirá evaluar la utilización de estos microorganismos como una nueva perspectiva a analizar como controladores biológicos de estas plagas a fin de minimizar el impacto que provocan en la producción agropecuaria de la región.

7. EXPOSICION SINTETICA 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.

Los estudios llevados a cabo en el período se relacionaron con el estudio de los endosimbiontes obligados de dos especies de hemípteros auquenorrincos que revisten importancia fitosanitaria por ser transmisores de patógenos al maíz en el país: *Delphacodes kuscheli* (Familia Delphacidae), vector del "Mal de Río Cuarto" (MRCV) y *Dalbulus maidis* (Familia Cicadellidae), vector del Corn Stunt Spiroplasma.

Actividades desarrolladas:

I- Cría en laboratorio de los insectos

Se ha mantenido en forma continua la cría de ambas especies bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad en el Bioterio de la División Entomología, Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.

Materiales y métodos: Las plantas hospedantes de cada especie *Avena sativa* (hospedante preferencial de *D. kuscheli*) y *Zea mays* (hospedante de *Dalbulus maidis*) se obtuvieron a partir de la siembra periódica de semillas en macetas plásticas conteniendo tierra fértil. La cría se mantuvo en condiciones asépticas durante todo el período lo cual ha permitido contar con los insectos necesarios para los ensayos.

II- Estudios sobre el efecto de la disminución experimental de los endosimbiontes sobre el desempeño del huésped

a- Evaluación del efecto de la calidad alimenticia sobre el dimorfismo alar, el tamaño corporal y número de endosimbiontes del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) (Euscomycetes: Clase Pyrenomycetes) en *Delphacodes kuscheli*

Se evaluó el desempeño de *D. kuscheli* sobre zonas preferidas y no preferidas de plantas de avena las cuales exhiben diferente calidad nutricional. En cada zona se registró la proporción de morfos alares (formas macrópteras y braquípteras), el tamaño corporal y el número de YLS/individuo.

Resultados: Los resultados de esta investigación fueron enviados para su publicación (*Detallado item 8.3*).

b- Estudio del efecto de la disminución experimental de YLS utilizando métodos físicos sobre el desempeño de *Delphacodes kuscheli*.

Para evaluar el efecto de una disminución significativa de YLS en el desempeño del vector se utilizó la técnica de tratamiento con calor (metodología citada en la bibliografía efectiva para reducir el n°/YLS en otras especies de delfácidos). A tal fin, ninfas de primer y segundo estadio, se expusieron por 3 días a temperatura constante de 35 °C. Los insectos tratados (n=100) y los controles, mantenidos a temperatura de cría óptima, 23-25°C (n=100) fueron acondicionados individualmente en jaulas de alimentación a fin de seguir su desarrollo individual. Se registró la duración del estado ninfal, supervivencia ninfal, longevidad de los adultos, fecundidad y fertilidad. Además se registró la longitud del cuerpo. El número de YLS/huésped se calculó, luego del tratamiento, en un pool de insectos tratados y testigo. La cuantificación de YLS/ insecto se llevó a cabo a partir del macerado individual de cada insecto y posterior conteo con Cámara de Neubauer.

Resultados: Los resultados de este ensayo se presentaron en modalidad de poster en el "IX Congreso Argentino de Entomología" realizado en la Ciudad de Posadas, Misiones durante el mes de Mayo de 2015 (*Detallado en ítem 14*).

Esta temática se enmarcó en el "Proyecto Promocional de Investigación y Desarrollo (PPID - UNLP 2014)" bajo mi dirección el cual fue acreditado durante el año 2014 y actualmente continúa vigente. (*Detallado en ítem 19*).

Durante el período informado he dirigido a 2 becarias alumnas (Becaria de Estímulo a las Vocaciones Científicas (CIN) y Becaria de Experiencia Laboral, Fac Cs Naturales y Museo-UNLP). Ambas alumnas cumplieron protocolos para la cría masiva de las plagas arriba mencionadas, se entrenaron en las actividades relacionadas con la manipulación de los insectos, confección de jaulas de cría, seguimiento individual de los insectos entre otras. Asimismo, en este período, han participado activamente en el diseño y ejecución de los ensayos en laboratorio anteriormente descriptos (registro, procesamiento y análisis estadístico de los datos).

III- Estudios de caracterización morfológica de los endosimbiontes obligados

*a-Endosimbiontes de *Dalbulus maidis**

Se localizaron a los bacteriomas de *D. maidis* bajo disecciones con microscopio estereoscópico. Se describió su conformación y la morfología y ultraestructura de los endosimbiontes alojados en su interior mediante el análisis de cortes histológicos con microscopía óptica y electrónica de transmisión. Los resultados de estos estudios

forman parte del manuscrito recientemente enviado para su publicación (*Detallado en ítem 8.3*)

b- Endosimbiontes de *Delphacodes kuscheli*

Se localizaron los YLS en el cuerpo graso abdominal y en relación a los ovocitos primarios en hembras oviplenas. Se describieron las características morfológicas y ultraestructurales con microscopía óptica y electrónica de transmisión. Estos resultados complementarán los estudios en curso relacionados con la identificación de los YLS a través de estudios moleculares.

IV- Estudios de caracterización molecular de los endosimbiontes obligados

a-Endosimbiontes de *Dalbulus maidis*

A fin de complementar los estudios previamente realizados, en este período se llevó a cabo un estudio metagenómico (análisis del 16S rDNA) el cual tuvo por objetivo conocer la diversidad de los endosimbiontes presentes en los bacteriomas de *D. maidis*. Se aplicó esta tecnología considerando que la misma es sumamente eficiente para conocer la diversidad de los organismos presentes en un sistema biológico.

Resultados: Los análisis metagenómicos mostraron que la secuencia de *Sulcia* representó más del 98 % de todas las secuencias obtenidas y el resto de las mismas correspondió a organismos contaminantes. Estos resultados permitieron concluir que *Sulcia* es el endosimbionte dominante en los bacteriomas de *Dalbulus maidis* lo cual concuerda con los estudios previos realizados los cuales aplicaron primers específicos para amplificar el 16S rDNA de endosimbiontes presentes en otras especies emparentadas a *Dalbulus*.

Estas actividades se llevaron a cabo con la colaboración de la Lic. en Biotecnología y Biología Molecular, Ernesto Franco bajo la supervisión del Dr. Pedro Ballati en el Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Fac Cs Agrarias y Forestales, UNLP.

Los resultados de esta investigación fueron enviados para su publicación (*Detallado ítem 8.3*).

b- Endosimbiontes de *Delphacodes kuscheli*

Se llevaron a cabo estudios de identificación taxonómica de los endosimbiontes del tipo YLS en *D. kuscheli* a través de la amplificación de secuencias del 18S rDNA.

Resultados: Se realizaron pruebas para la extracción de ADN fúngico a partir de la maceración de individuos adultos provenientes de la colonia. Se aislaron a los YLS a través de la separación en gradientes de densidad. Actualmente se están probando diferentes metodologías para romper la pared celular de los YLS a fin de permitir la posterior extracción de ADN.

Se probaron además diferentes medios de cultivo según la metodología propuesta para otros delfácidos. Los medios aún están siendo ajustados ya que, por la dependencia mutua que se establece (YLS-insecto), el mantenimiento de los endosimbiontes fuera del insecto resulta sumamente complicado.

Estas actividades se están llevando a cabo por Ernesto Bernabei, estudiante de la Carrera de Microbiología quien desarrollará su tesina en la temática. Las tareas se llevaron a cabo bajo mi dirección y la supervisión del Dr. Pedro Ballati en el Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI), Fac Cs Agrarias y Forestales, UNLP.

Las investigaciones arriba mencionadas se enmarcaron en proyectos de investigación multidisciplinarios de los cuales participo como miembro investigador, los cuales financiaron parcialmente las investigaciones llevadas a cabo (*Detallado en ítem 19*).

Dificultades en el plano material:

Si bien el estudio de los endosimbiontes obligados de los auquenorrincos ha sido abordado para otras especies plagas a nivel mundial, en el país los estudios resultan aún preliminares. En el transcurso de los ensayos llevados a cabo hasta el momento, si bien se han seguido los protocolos aplicados para el estudio de los endosimbiontes en otros auquenorrincos plaga de otras latitudes, se requiere ajustar y adecuar constantemente la metodología por lo que los resultados están aún en vías de publicarse en revistas internacionales de la especialidad.

Importancia de la temática desarrollada:

La línea de investigación en desarrollo integra, por primera vez en el país, el estudio molecular de los endosimbiontes obligados en auquenorrincos y los estudios biológicos destinados a conocer el rol de estos microorganismos en el ciclo vital de la plaga.

El carácter obligado de la asociación simbiótica que se establece entre los hemípteros auquenorrincos y los endosimbiontes (hongos y/o bacterias) que complementan la dieta desbalanceada de estos insectos (savia del xilema o floema), ha merecido especial atención en los últimos años ya que ha comenzado a considerarse la posible aplicación de estos organismos como controladores biológicos de estas plagas.

El avance en esta línea de investigación generará conocimientos básicos relacionados con la bioecología del vector los que podrían ser aplicados para minimizar el impacto de las enfermedades en la producción agropecuaria de la región.

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.*

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.

1- Bacteriomes of the corn leafhopper, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott, 1923) (Insecta, Hemiptera, Cicadellidae: Deltocephalinae) harbor *Sulcia* symbiont: molecular characterization, ultrastructure and transovarial transmission

Autores: María Eugenia Brentassi, Ernesto Franco, Pedro Balatti, Rocío Medina, Franco Bernabei and Ana M. Marino de Remes Lenicov.

Revista: Protoplasma

Abstract

In this study we surveyed bacteriome-associated microbiota of the corn leafhopper *Dalbulus maidis* by means of histological, ultrastructural and molecular analyses. Amplification and sequencing of 16S rDNA genes revealed that the endosymbiont "*Candidatus Sulcia muelleri*" (Phylum Bacteroidetes) resides in bacteriomes of *D. maidis* and phylogenetic analysis showed that the sequence was closely allied to other found in representatives of the subfamily Deltocephalinae. We failed to amplify other sequences as "*Candidatus Nasuia deltocephalinicola*", a co-primary symbiont frequently associated to deltocephaline leafhoppers. Also a metagenomic analysis, carried out in order to investigate the possible presence of other bacteria inhabiting the bacteriomes of *D. maidis*, showed that the sequence of *Sulcia* accounted 98.56% of all the sequences obtained. Histological and ultrastructural observation showed that microorganisms harbored in the bacteriomes (central syncytium and cytoplasm of uninucleate bacteriocytes) look like others *Sulcia* described in hemipteran species and they were transovarially transmitted from mother to the offspring which is typical of obligate endosymbionts. The only presence of *Sulcia* in the bacteriomes of *D. maidis* was discussed.

2- Wing dimorphism in the planthopper *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae): relation with food quality, body size and number of obligate endosymbionts.

Autores: M.E Brentassi; Maciá A; Liljeström G, de la Fuente D; Cano M.E & Marino de Remes Lenicov Ana M.de.

Revista: Studies on Neotropical Fauna and Environment.

Abstract

Delphacodes kuscheli, the main vector of maize Mal de Río Cuarto disease in Argentina, was used to analyze the effect of food quality on wing-form, demographics traits and number of yeast-like symbionts (YLS). First instar nymphs were caged on the leaf apex or on the ligular zone of oat plants, characterized by having low and high nutritional value respectively, and followed in their development to adulthood. Food quality affected the proportion of wing morphs showing a trend to increase the number of brachypters individuals on the higher food quality zone. Macropterous and brachypterous females from the ligular zone had higher survivorship, shorter development time and higher number of YLS. For males, development time and number of YLS did not differ significantly in individuals fed from both zones, while body and wing length were superior in individuals fed on the ligular zone. Results suggest that females allocate the resources from feeding on a richer zone to reduce the pre-reproductive period and to increase the number of YLS, and males acquire a larger size while maintaining development time and YLS number. This is the first study quantifying the variation of number of YLS according to food quality in a Neotropical planthopper pest.

3- First evidence that *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) feeds from mesophyll of *Eucalyptus* sp leaves.

Autores: Santadino Marina; Brentassi María E; Fanello Diego & Coviella Carlos.

Revista: Austral Entomology

Abstract

The bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* (Heteroptera: Thaumastocoridae) originally restricted to Australia, is an important emerging pest of *Eucalyptus* spp. plantations in the Southern hemisphere. It feeds on mature *Eucalyptus* spp. leaves,

causing the loss of photosynthetic surface area and defoliation, and even tree death. In this work feeding activities of *T. peregrinus* on *Eucalyptus camaldulensis* leaves and its primarily food resource were identified. In cross sections of leaves solid salivary deposits were detected on the leaves surface and also in some subepidermal cells of the palisade parenchyma. In addition the disorganization and removal of chloroplasts were observed. The presence of chlorophyll in guts of adults and nymphs were analyzed using spectrophotometry and confocal laser scanning in order to obtain in situ fluorescent spectra. Both spectra showed peaks of absorbance similar to that of chlorophyll spectrum. In addition the presence of chlorophyll in guts of *T. peregrinus* using fluorescence microscopy was identified. The results of this study are the first evidence that *Thaumastocoris peregrinus* feeds from the palisade parenchyma (chlorenchyma) of *Eucalyptus camaldulensis* leaves indicating that mesophyll is a primary food source of this species.

Este trabajo fue recientemente evaluado y actualmente se está trabajando sobre las correcciones realizadas por los revisores.

8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

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

1- Trabajo finalizado y enviado al especialista en la temática (Dr Hiroaki Noda) para su revisión crítica:

Modeling population dynamics of yeast-like symbionts (Ascomycota: Pyrenomycetes: Clavicipitaceae) of the planthopper *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae)

Autores: Liljesthröm G, Brentassi M. E & A. M. Marino de Remes Lenicov.

Abstract

Delphacodes kuscheli establish mutualistic relationship with yeast-like symbionts that live in the fat body and are necessary for host survival and reproduction. We estimated for a host of age t , its body weight, $W(t)$, and the number of YLS per host, $YLS(t)$. The host fat body was considered a fixed proportion of $W(t)$, which was calculated as: $W(t) = L_m / [1 + e^{-(d-kt)}]$, (where L_m = the maximum observed weight, and d and k are constants). We calculated the number of YLS per unit host body mass: $\alpha(t) = YLS(t) / W(t)$. We also calculated the number of YLS per host, $cYLS(t)$,

and analyzed the pattern of variation in both sexes adapting the expression of the logistic model: $cYLS(t) = KNoert / K + (ert - 1)No$, (where No = initial number of YLS, r = intrinsic per capita rate of natural increase, and K = variable carrying capacity). In females the carrying capacity varied according to a constant proportion of the host's weight: $K(t) = \alpha W(t)$. In males $\alpha(t)$ was considered a decreasing function of the host age: $K(t) = \alpha(t)W(t)$. The coefficients No , α , and r were subjected to parameterization. We found that the patterns of $W(t)$ and $YLS(t)$ of *D. kuscheli* were similar to other planthoppers. In females YLS increased up to the adult stage and then remained almost constant, varying similarly to individual weight. In males YLS increased up to the 5th instar nymph as the individual weight did, but the number of YLS decreased in the adult stage and the correlation was not so good. The calculated number of YLS per host matches reasonably well with the number estimated experimentally both in females and males. This is the first study that quantified and modeled the dynamics of YLS endosymbionts in a Neotropical planthopper pest. The models will be used in future studies for better understand the experimental reduction of YLS in young nymphal stages.

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

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.*

1- Memorias anuales de las actividades desarrolladas en la División Entomología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP (Período 2014-2015). Jefe de División: Dra. Analía Lanteri.

2- Informe de Mayor dedicación para Docentes Investigadores, Fac. de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). (Período: 01/01/2014 - 31/12/2015). Secretaría de Ciencia y Técnica de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.

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.

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.*

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

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

BECARIOS

1-Becario: Daniela de la Fuente.

Tipo de Beca: "Becas de Estímulo a la Vocaciones Científicas". Consejo Interuniversitario Nacional. (Becas EVC- CIN).

Director: Brentassi María Eugenia

Co-Director: Maciá Arnaldo

Título: "Efecto de la disminución experimental de la carga de endosimbiontes obligados sobre el desempeño de *Delphacodes kuscheli*, vector del Mal de Río Cuarto del maíz. (Hemiptera: Auchenorrhyncha)".

Lugar de trabajo: División Entomología Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

Resolución: P. N° 264/14.

Período: 1 Septiembre 2014 - 31 Agosto 2015.

Renovación por concurso de segundo año de beca. Período: 1 Septiembre 2015- 31 Agosto 2016.

2-Becario: María Eugenia Cano

Tipo de Beca: Beca de Experiencia Laboral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo UNLP.

Director: Brentassi María Eugenia

Co-Director: Maciá Arnaldo

Título: "Efecto de la disminución experimental de la carga de endosimbiontes obligados sobre el desempeño de *Delphacodes kuscheli*, vector del Mal de Río Cuarto del maíz. (Hemiptera: Auchenorrhyncha)".

Lugar de trabajo: División Entomología Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

Resolución: 034/15.

Período: 1 Marzo 2015 - 31 Diciembre 2015.

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.*

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- Evento: "IX Congreso Argentino de Entomología". Organizado por la Sociedad Argentina de Entomología.

Tema: Efecto de la disminución experimental del número de endosimbiontes obligados sobre el desempeño de *Delphacodes kuscheli*, vector del "Mal de Río Cuarto del maíz" (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Delphacidae).

Autores: Brentassi M.E, Liljesthröm Gerardo, Maciá A, De La Fuente D, Cano M.E y Marino de Remes Lenicov Ana M.

Ciudad de Posadas, Misiones, Argentina. 19 al 22 de Mayo de 2015.

2- Evento: "Segundo Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires". Organizado por la Comisión Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC). 1 Octubre de 2015. La Plata. (Asistencia).

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

CURSOS

1- Nombre: Curso de actualización profesional: "Uso de software de administración Bibliográfica". Zotero. Organizado por el Departamento de Postgrado, Fac Cs Naturales y Museo. UNLP. 11 Marzo al 8 de Abril de 2015. 12 hs. Aprobado.

ESTADIA CIENTÍFICA

1- Estadía de Investigación Científica realizada en la Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Cátedra de Química Biológica, Grupo Interacciones Planta Insecto a cargo de la Dra. Adriana Álvarez.

Fecha: 28 de Noviembre al 5 de Diciembre de 2015.

Motivo: "Aplicación de la técnica de EPG (Electrical Penetration Graph) para el estudio del comportamiento alimentario de *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Auchenorrhyncha. Delphacidae), vector del Mal de Río Cuarto del maíz".

Esta estadía resultó sumamente productiva ya que, por primera vez en el país se llevó a cabo la caracterización del comportamiento alimentario de una especie de auquenorrinco de importancia fitosanitaria para el país. La técnica de EPG resulta de interés por las diversas aplicaciones que ofrece entre las que se destacan conocer la

fuente de alimentación e identificar mecanismos de resistencia de las plantas hospedadas.

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

1- Tipo de subsidio: Subsidio en el marco de Proyectos de Investigación acreditados.
Tema del Proyecto: "Organismos simbiotes de Hemípteros auquenorrincos. Estudios biológicos y moleculares de los endosimbiontes obligados de *D. kuscheli*, vector del "Mal de Río Cuarto del maíz".

Director: Brentassi Ma Eugenia.

Integrantes: Maciá Arnaldo; Toledo Andrea; Barrios Isabel, Remes Lenicov Ana Marino de, Gerardo Liljhestrom y Pedro Ballati. Colaboradores: De la Fuente Daniela y Cano María Eugenia. Fecha de Inicio: 01/08/2014. Proyecto bianual.

Unidad de Ejecución: División Entomología. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.

Institución otorgante: UNLP. Proyecto Promocional de Investigación y Desarrollo (PPID – UNLP 2014).

Período: Fecha de Inicio: 01/08/2014 al 31/07/2016. Proyecto bianual.

Monto recibido a la fecha: \$ 5200.

2-Tipo de subsidio: Subsidio para viajes y/o estadías.UNLP Julio 2015-Junio 2016.

Institución otorgante: Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de la Plata.

Monto: \$4000

Motivo: Estadía de Investigación Científica realizada en la Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Salta. Noviembre de 2015.

3-Tipo de subsidio: Subsidio Institucional para Investigadores CIC.

Institución otorgante: Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires. (CIC).

Nº de resolución: 833/14

Monto: \$ 7000

Duración: 5/08/2014- 5/08/2015

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

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 período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

PROYECTOS DE INVESTIGACION

Proyectos Acreditados en los cuales participo:

- En calidad de Director:

1- Tema del Proyecto: "Organismos simbiotes de Hemípteros auquenorrincos. Estudios biológicos y moleculares de los endosimbiontes obligados de *D. kuscheli*, vector del "Mal de Río Cuarto del maíz".

Director: Brentassi Ma Eugenia.

Integrantes: Maciá Arnaldo; Toledo Andrea; Barrios Isabel, Remes Lenicov Ana Marino de, Gerardo Liljhestrom y Pedro Ballati. Colaboradores: De la Fuente Daniela y Cano María Eugenia. Fecha de Inicio: 01/08/2014. Proyecto bianual.

Unidad de Ejecución: División Entomología. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.

Institución otorgante: UNLP. Proyecto Promocional de Investigación y Desarrollo (PPID – UNLP 2014).

Período: Fecha de Inicio: 01/08/2014 al 31/07/2016. Proyecto bianual.

- En calidad de participante como miembro investigador:

2- Proyecto: "Auchenorrhyncha asociados a plantas hidrófitas en la Argentina. Estudios taxonómicos y biológicos sobre su accionar como nemigos naturales de especies invasoras". Director: Dra. Ana Marino de Remes Lenicov.

Unidad de Ejecución: División Entomología. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP.

Institución otorgante: UNLP. Programa de Incentivos a los Docentes Investigadores.

Período 01/01/2014 al 31/12/2017.

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

Cargo Docente: Jefe de Trabajos Prácticos. Carácter ordinario. Resolución N° CD 273-14.

Cátedra de Morfología Vegetal. Materia de carácter anual de la Fac. de Ciencias Naturales y Museo, UNLP.

Categorizado como docente-investigador en el marco del Programa de Incentivos a docentes Investigadores de Universidades Nacionales: (Año: 2008 Categoría IV).

La actividad docente desarrollada contempló:

- Programación y dictado de los Trabajos Prácticos frente a cursos regulares.
- Asistencia técnica en el laboratorio para la preservación, conservación y clasificación del material didáctico.
- Reuniones periódicas de coordinación con los docentes auxiliares de la Cátedra para preparación de los trabajos prácticos.
- Participación en reuniones periódicas de los docentes para la actualización de temas relacionados con la materia.
- Evaluación de los alumnos, parte práctica y teórica, en los tres parciales y sus respectivos recuperatorios a lo largo del año.
- Viaje de estudio, en calidad de docente a cargo, a la Estación Experimental INTA Castelar.

Porcentaje aproximado de tiempo durante el año: 20 %.

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

Experiencias previas enmarcadas en el estudio de aspectos del comportamiento alimentario de especies de auquenorrincos fitófagas perjudiciales me han permitido interactuar en otras líneas de investigación detalladas a continuación:

- “Estudios bionómicos y de dinámica poblacional para el manejo de *Thaumastocoris peregrinus*, especie invasora plaga de *Eucalyptus* sp en Argentina. Tema de Tesis doctoral de la Lic Marina Santadino dirigida por Carlos Coviella. Alumna del Doctorado de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo-

Grado de Participación: En el marco de la Tesis doctoral arriba mencionada he sido invitada a participar en la formación de un doctorando de la Fac. Cs Naturales y Museo (Lic.Marina Santadino) en calidad de Director de la pasantía: “Entrenamiento en técnicas histológicas para abordar el estudio del comportamiento alimentario y daños producidos en los tejidos vegetales por insectos Hemípteros”. Dicha pasantía tuvo por objeto cumplimentar unos de los objetivos de su tesis doctoral relacionado con el conocimiento de la fuente alimentaria de estos insectos. Período: Abril de 2013-abril 2015 .

Resultados: Se identificó al mesófilo como fuente primaria de alimentación de la chinche. Los estudios incluyeron cortes histológicos de hojas expuestas a la la alimentación de la chinche, análisis de la presencia de clorofila en las excretas y en el contenido abdominal. Las observaciones se llevaron a cabo con microscopía óptica y microscopía confocal.

Los resultados fueron enviados para su publicación (*Detallado en ítem 8.3*)

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

“Estudio de la interacción huésped-simbiontes obligados en poblaciones de auquenorrincos delfácidos y cicadélidos de importancia fitosanitaria asociados al agroecosistema maíz de la Provincia de Buenos Aires. Estudios biológicos y moleculares.”

PLAN A DESARROLLAR

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos hasta el momento y, con el objeto de avanzar en la temática, para el próximo período se propone proseguir con el estudio de los endosimbiontes del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) (Euscomycetes: Clase Pyrenomycetes) en *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), principal vector del virus del Mal de Río Cuarto del maíz (MRCV). A tal fin se proponen las siguientes actividades:

- 1- Seleccionar métodos efectivos para reducir la carga de endosimbiontes (organismos sub-simbióticos).
- 2- Evaluar el efecto de la reducción de los YLS (mediante la aplicación de fungicidas) sobre el desempeño de *D. kuscheli*.
- 3- Evaluar el efecto de la reducción de YLS sobre el accionar del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.
- 4- Proseguir con los estudios moleculares a fin de conocer la diversidad de organismos endosimbiontes del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) asociados a *Delphacodes kuscheli*.

Materiales y Métodos

La cría de insectos se realizará a partir de insectos obtenidos del campo y de los mantenidos bajo condiciones controladas de luz, temperatura y humedad (fotoperíodo: 16 hs de luz artificial (L:16, D:8), 24 °C ± 2; HR: 55-65 %) sobre sus hospedantes naturales en el Bioterio de la División de Entomología de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP. Actualmente se cuenta con colonias experimentales de ambas especies.

- 1- Desarrollar métodos efectivos para reducir la carga de endosimbiontes (organismos sub-simbióticos).

Hasta el momento se ha evaluado la técnica de calor (método físico) para reducir el número de YLS/ individuo. En el próximo período se procederá a probar la aplicación de fungicidas sistémicos (métodos químicos) por pulverización directamente sobre las plantas de avena, que servirán de alimento a las plagas durante el tratamiento, con la

utilización de un aerógrafo profesional que permitirá ajustar exactamente la dosis aplicada a cada réplica en cada tratamiento. Los tratamientos incluirán a cada uno de los fungicidas seleccionados por separado y a combinaciones de los mismos hasta lograr una metodología efectiva en la reducción de los endosimbiontes. La cuantificación del número de YLS en organismos alimentados sobre plantas pulverizadas y en el grupo control (individuos alimentados sobre plantas no tratadas) se realizará con un hemocitómetro. Los resultados de ambos tratamientos (método físico y químico) se compararán a fin de evaluar la efectividad de cada uno y seleccionar el más efectivo para estudios que requieran utilizar organismos subsimbióticos (cara reducida de YLS).

2- Evaluar el efecto de la reducción de los YLS (mediante la aplicación de fungicidas) sobre el desempeño de *D. kuscheli*.

Se utilizarán ninfas de primer estadio alimentadas sobre plantas tratadas con fungicidas y se registrará a partir de registros diarios: duración total del estado ninfal, longevidad de los adultos, proporción de morfos alares (formas macrópteras y braquípteras) y longitud corporal y fecundidad. Para calcular la fecundidad se trasladará a individuos adultos de ambos sexos a jaulas de PET (polietileno-tereftalato) conteniendo plantas del hospedante a fin de obtener posturas endofíticas. El conteo de huevos se realizará mediante la disección del tejido vegetal bajo microscopio binocular estereoscópico.

Al igual que en el punto anterior, se compararán estos resultados con los previamente obtenidos mediante la aplicación del tratamiento calor (método físico).

3- Evaluar el efecto de la reducción de YLS sobre el accionar del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*.

En relación a este punto se trabajará en forma conjunta con la Dra Andrea Toledo (Inv del CONICET) quien es investigador integrante del grupo de trabajo y ha evaluado desde el año 2002 el accionar de los hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de hemípteros auquenorrincos de importancia fitosanitaria entre los que se incluye *Delphacodes kuscheli*. Sus investigaciones han demostrado que *Beauveria bassiana* (Orden Hypocreales) ocasiona mortalidades superiores al 70% en *D. kuscheli* bajo condiciones de laboratorio. Además numerosos estudios indican la compatibilidad de este hongo con diferentes fungicidas y pesticidas utilizados en la agroindustria.

Basándonos en nuestros resultados preliminares en la temática y, respaldándonos en estudios recientes a nivel mundial, entre los que se menciona como método de control de plagas de delphácidos la utilización conjunta de insecticidas y fungicidas con una efectiva inhibición sobre los YLS, se propone evaluar el efecto de la reducción de YLS en *D kuscheli* sobre el accionar de *B. bassiana*

Los insectos se inocularán con una suspensión de conidios de 1×10^8 conidios/mililitro de un aislamiento altamente virulento del hongo entomopatógeno *B. bassiana*, utilizando como vehiculizante Tween 20 0,01% v/v. Los mismos serán pulverizados utilizando un aerógrafo profesional. Tratamientos y controles constarán de tres réplicas de 15 adultos cada una. Los insectos tratados (insectos con la carga normal de simbioses + *B. bassiana* e insectos sub-simbióticos + *B. bassiana*) y controles (insectos con la carga normal de simbioses e insectos sub-simbióticos, ambos pulverizados sólo con Tween) se mantendrán dentro de los dispositivos donde fueron inoculados, junto con brotes de avena por un período de una semana, bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperíodo. Los tratamientos serán revisados diariamente renovando los brotes de avena, retirando los insectos muertos, esterilizándolos superficialmente y colocándolos en cámaras húmedas para comprobar la mortalidad de los mismos por infección fúngica. Se evaluarán parámetros como mortalidad porcentual acumulada y tiempo medio de mortalidad.

La significancia de las posibles diferencias de los datos obtenidos en el punto 1, 2 y 3 se analizarán mediante la distribución t, ji- cuadrado y a través del uso de paquetes estadísticos. Para el análisis estadístico de los datos se cuenta con la colaboración del Dr. Arnaldo Maciá, quien participa como miembro integrante de los proyectos y participó como codirector de las becas arriba mencionadas.

Es de mencionar que durante el año 2015 hemos realizado una presentación conjunta con la Dra Andrea Toledo (PICT Convocatoria 2015) fin de subsidiar esta línea de investigación. Tema presentado: "Organismos simbioses y su accionar en la biología de insectos plaga de la agricultura. Estudio de los yeast-like symbionts de *Delphacodes kuscheli*, vector del Mal de Río Cuarto del Maíz en Argentina (Hemiptera: Delphacidae)."

4- Proseguir con los estudios moleculares a fin de conocer la diversidad de organismos endosimbioses del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) asociados a *Delphacodes kuscheli*.

La identidad de los simbioses se determinará a través de la amplificación de la secuencia del 18S rDNA y se establecerá la similitud con aquellas disponibles en las bases de genes del GenBank. Las secuencias del 18S rDNA se alinearán por medio del programa Clustal W versión 1.81 (<http://www2.ebi.ac.uk/clustalw>) con otras secuencias conocidas de YLS y el resultado de este alineamiento se utilizará para construir un árbol filogenético (utilizando el algoritmo de máxima similitud) por medio del programa Mega 5.0

Importancia de la temática en relación a los intereses de la Provincia.

En la Argentina, la principal estrategia utilizada actualmente para reducir la incidencia del MRCV es el empleo de cultivares de maíz calificados comercialmente como "tolerantes", cuando las épocas de siembra coinciden con los picos poblacionales de los vectores.

En el marco de la búsqueda de nuevas alternativas de control, amigables con el ambiente y la salud tanto humana como animal, se propone integrar dos líneas de investigación llevadas a cabo desde hace varios años por el grupo de trabajo. La nueva línea de investigación plantea la posibilidad de utilizar en forma conjunta al hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana* (Hypocreales: Cordicipitaceae) y fungicidas efectivos para la disminución de los YLS que a su vez sean compatibles con esta especie fúngica. Lo que se espera como resultado, en referencia a la bibliografía consultada, es que al disminuir la cantidad de YLS por acción de los fungicidas, la cantidad de aminoácidos suministrados no sea la óptima para los requerimientos metabólicos generales del insecto y en particular para la formación de la quitina que funciona como barrera a la infección primaria, y en consecuencia que la susceptibilidad de la plaga frente al ataque de *B. bassiana* sea mayor.

En este marco, las actividades mencionadas en el presente plan, tienen por objeto generar conocimientos básicos útiles para ser considerados en el contexto de un manejo integrado de los auquenorrincos plagas asociados al cultivo de maíz en el país.

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: ininvest@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 peticionar 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.