

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO

Informe Científico¹

PERIODO ²: 2016-2017

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: BRENTASSI

NOMBRES: MARIA EUGENIA

Dirección Particular: Calle:

Localidad: TOLOSA, LA PLATA CP: 1900

*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.

PALABRAS CLAVE (HASTA 3) endosimbiontes obligados insectos maíz

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: 01/09/2009

ACTUAL: Categoría: ADJUNTO CON DIRECTOR desde fecha: 25/03/2015

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, Edificio Anexo Museo.

Cátedra:

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

Dirección: Calle: Calle 122 y 60 N°: S/N

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 4228451 int 133

Cargo que ocupa: Docente- Investigador

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

Apellido y Nombres: MARINO DE REMES LENICOV ANA. M

Dirección Particular:

Localidad: La Plata

Dirección electrónica:

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 2017 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2015 al 31-12-2016, para las presentaciones bianuales. Para las presentaciones anuales será el año calendario anterior.

.....
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 su capacidad de vehicular fitopatógenos. Estos insectos establecen relaciones mutualistas 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 microorganismos como controladores biológicos de estas plagas. La línea de investigación en desarrollo integra, por primera vez en el país, estudios biológicos y moleculares de los endosimbiontes obligados de dos especies de importancia sanitaria para el maíz: *Delphacodes kuscheli*, vector del virus del Mal de Río Cuarto (MRCV) y *Dalbulus maidis*, vector del Corn Stunt Spiroplasma (CSS). Se llevan a cabo estudios que tienen por objeto a) localizar a los endosimbiontes en los tejidos del huésped b) analizar el efecto de la disminución experimental de los endosimbiontes sobre el desempeño de las plagas c) caracterizar morfológica y molecularmente a los microorganismos aislados. El avance en esta línea de investigación generará información que permitirá evaluar la utilización de estos microorganismos como una nueva alternativa a considerar en el manejo integrado 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, explicitar la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Las investigaciones comprendieron el estudio de los endosimbiontes obligados asociados a dos especies de hemípteros auquenorrincos consideradas plagas del cultivo de 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.

Se llevaron a cabo estudios biológicos, a fin de conocer el rol de los endosimbiontes en el desempeño del vector y estudios moleculares a fin de conocer su identidad.

En este marco, se llevaron a cabo las siguientes actividades:

I- Cría en laboratorio de los insectos

Se mantuvo 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.

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- Cuantificación de endosimbiontes del tipo "Yeast-like" a lo largo del ciclo de vida de *Delphacodes kuscheli*

Se cuantificó el número de endosimbiontes a lo largo del ciclo de vida del vector (huevos, ninfas y adultos, de diferente sexo y edad). Los resultados de esta investigación fueron publicados (Detallado en ítem 8.1.2).

III- Evaluación del efecto de la disminución experimental de los endosimbiontes sobre el desempeño de *Delphacodes kuscheli*

Se evaluó el efecto de la ingesta de fungicidas sistémicos sobre el número de endosimbiontes. Luego de la aplicación de diferentes dosis de fungicidas comerciales se logró reducir en un 50 % la carga endosimbiontes. La reducción de endosimbiontes afectó el normal desempeño del vector alargando significativamente el tiempo de desarrollo preimaginal y la supervivencia ninfal. Los resultados de este ensayo se presentaron en modalidad de poster en el "X Congreso Argentino de Entomología" realizado en la Ciudad de Mendoza, Chacras de Coria durante el mes de Mayo de 2018 (Detallado en ítem 14.5).

IV- Estudios de caracterización morfológica y molecular de los endosimbiontes obligados

Se probaron diferentes métodos y medios de cultivo a fin de lograr el aislamiento in vitro de los endosimbiontes obligados. Se procedió a realizar la caracterización morfológica de las colonias obtenidas (mediante la observación de preparaciones microscópicas) y la caracterización molecular a partir de la secuenciación del genoma.

Resultados: Se logró el aislamiento e identificación morfológica y molecular de una especie de yeast-like proveniente de los huevos de *D. kuscheli*. Se amplificó el ITS de cada aislamiento utilizando los primers universales ITS 5 (F) e ITS 4 (R) según White 1990. Los amplicones obtenidos se enviaron a secuenciar (Servicio Macrogen). Se estableció la similitud de las secuencias obtenidas con aquellas disponibles en las bases de genes del GenBank lo cual arrojó un 99% de similitud con el género *Naganishia* (=Cryptococcus). Finalmente se construyó un árbol filogenético a través del análisis de máxima verosimilitud.

Los resultados de este estudio se presentaron en calidad de presentación oral en el "X Congreso Argentino de Entomología" realizado en la Ciudad de Mendoza, Chacras de Coria durante el mes de Mayo de 2018 (Detallado en ítem 14.6).

V- Evaluación del efecto de la calidad alimenticia sobre el dimorfismo alar, el tamaño corporal y número de endosimbiontes del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) 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 publicados (Detallado en ítem 8.1.3).

VI- Estudios metagenómicos a fin de conocer la identidad de los endosimbiontes obligados asociados a ambas especies arriba mencionadas.

- Se identificaron los endosimbiontes obligados alojados en los bacteriomas de *Dalbulus maidis* (Trabajo publicado, detallado en ítem 8.1.1).

- Se encuentra en etapa de evaluación los resultados de los estudios metagenómicos llevados a cabo con el fin de conocer la diversidad de los endosimbiontes obligados asociados a *D. kuscheli* (análisis en curso).

Las temáticas arriba mencionadas se enmarcaron en diferentes proyectos de investigación los cuales subsidian estas investigaciones (Detallados en ítem 16)

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. Asimismo, para cada publicación deberá indicar si se encuentra depositada en el repositorio institucional CIC-Digital.*

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: M.E Brentassi, Ernesto Franco, Pedro A. Balatti, Rocío Medina, Franco Bernabei and Ana M. Marino de Remes Lenicov.

Revista: *Protoplasma*. 2016. 254 (3), 1421-1429. DOI 10.1007/s00709-016-1033-4.

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 hemipterans 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.

Grado de Participación: Se llevó a cabo la cría experimental del vector, las disecciones de los bacteriomas, descripción de los cortes histológicos, redacción del manuscrito. Los estudios referidos a la identificación molecular de los endosimbiontes se llevaron a cabo con la colaboración del 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.

2- Modeling population dynamics of intracellular yeast-like symbionts in the life cycle of *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), natural vector of Mal de Río Cuarto of maize in Argentina.

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

Revista: Symbiosis. June 2017, Volume 72, Issue 3, pp 171–181.
DOI 10.1007/s13199-016-0452-5

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: $cYLS(t) = KNo_{ert} / (K + (e^{rt} - 1)No)$, (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.

Grado de Participación: Cría del vector en laboratorio, cuantificación de endosimbiontes, participación en el análisis y redacción del manuscrito.

3- Food quality affects wing-form, demographic traits and number of yeast-like symbionts (YLS) in the planthopper vector, *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae).

Autores: M.E Brentassi; Maciá A; De La Fuente D; Cano M.E; & Marino de Remes Lenicov Ana M. de.

Revista: Studies on Neotropical Fauna and Environment. 2017.
<http://dx.doi.org/10.1080/01650521.2016.1258107>

Volumen 52, Issue 1, pp. 25-36.

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 suggests that females allocates 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.

Grado de Participación: Cría del vector en laboratorio, participación de los ensayos experimentales, cuantificación de endosimbiontes, redacción del manuscrito.

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

Autores: Marina Santadino, María Eugenia Brentassi, Diego Fanello & Carlos Coviella.

Revista: *Environmental Entomology*. 2017. 46 (2): 251-257. doi: 10.1093/ee/nvw163.

Abstract

The bronze bug, *Thaumastocoris peregrinus* Carpintero & Dellapé, 2006 (Heteroptera: Thaumastocoridae) originally restricted to Australia, is an important emerging pest of *Eucalyptus* plantations in the Southern Hemisphere. It feeds on mature leaves, causing the loss of photosynthetic surface area and defoliation and, according to some studies, even tree death. In this work, feeding activities of *T. peregrinus* on *Eucalyptus camaldulensis* Dehn leaves and its primary food resources were identified. In cross sections of leaves, solid salivary deposits on epidermal cells and in the vicinity of stomata cells were detected. In subepidermal cells of the palisade parenchyma near the stylet penetration point, disorganization and removal of chloroplasts were also observed. The presence of chlorophyll in guts of adults and nymphs was analyzed using spectrophotometry and confocal laser scanning to obtain in situ fluorescent spectra. Both spectra showed chlorophyll absorbance peaks. In addition, the presence of chlorophyll in guts of *T. peregrinus* using fluorescence microscopy was identified. These results provide the first evidence that *T. peregrinus* feeds from the palisade parenchyma (chlorenchyma) of *Eucalyptus* leaves.

Grado de Participación: Realización y análisis de los cortes histológicos a fin de identificar actividad alimentaria y daños producidos en los tejidos vegetales, colectas de excreción, participación del análisis de los datos y redacción del manuscrito.

5- New taxa and combinations in Neotropical Delphacini (Hemiptera: Fulgoroidea)

Autores: Ana Marino & Brentassi M. Eugenia

Revista: *Zootaxa*. 2017. doi.org/10.11646 DOI: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4281.1.26>

Grado de Participación: Participación en la toma de datos merísticos y descripciones, toma de fotografías, colaboración en el armado del manuscrito.

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, deber á 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- The probing behavior of the planthopper vector *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae) on its alternate host plants maize and oat, is implicated in its vector role

Autotres: María Eugenia Brentassi, Cristina Renata Machado-Assefh and Adriana Elisabet Alvarez

Abstract

Delphacodes kuscheli is the most important natural vector of Mal de Río Cuarto virus (MRCV) in Argentina, a fijivirus (Reoviridae) that causes important economic losses on maize production. Although this planthopper does not breed successfully on maize, virus transmission occurs when adults migrate from oat, its preferred winter host and a reservoir of the virus, to maize. Probing behavior on both hosts was recorded and analyzed using the direct current electrical penetration graph ((DC-EPG) system. Eight main waveforms were identified and related with putative probing activities: np (non-penetration or non-probe); D1, D2, D3 (stylet pathway: penetration initiation, salivation, stylet movement and extracellular activities near the phloem region); D4-a (sieve element salivation); D4-b (phloem sap ingestion); D5 (xylem activity) and D6, related to derailed stylet mechanics. The EPG variables showed that on maize, compared with oat, *D. kuscheli* exhibited longer periods of non-probe and longer time from first probe to first phloem activity, with a higher percentage of probing spent in stylet pathway and xylem phase. Furthermore, on maize, fewer insects showed phloem phase and sustained phloem ingestion than on oat, and the time on phloem ingestion (D4-b) was shorter than on oat. The constrained behavior of *D. kuscheli* on maize suggests that plant resistance factors may be involved. The different probing behavior of *D. kuscheli*, on maize and oat, with the implications on virus transmission are thoroughly discussed.

Este trabajo fue enviado a la revista *Insect Science* (fecha 18 de Mayo, 2018). Recientemente nos comunicaron que el mismo no fue considerado como prioritario en la primera ronda de selección de trabajos. Próximamente se seleccionará otra revista para ser enviado. (Se adjunta copia del trabajo completo).

8.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION.

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

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. Indicar en cada caso si se encuentra depositado en el repositorio institucional CIC-Digital.*

1- Informe de Mayor dedicación para Docentes Investigadores, Fac. de Ciencias Naturales y Museo (UNLP). (Período: 2016, 2017). 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

1- Cargo: Jefe de Trabajos Prácticos.

Dedicación: Simple. Asignatura: Cátedra de Morfología Vegetal. Materia de carácter anual de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP).

Carácter Interino desde el 1° de Abril de 2004 al 10/10/2014. (Resol. N° 275 del H.C.A. de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo UNLP). Carácter ordinario (por concurso) desde el 10/10/2014 a la actualidad (Resol. N° CD 273-14).

Categorizado como docente-investigador (categoría III) en el marco del Programa de Incentivos a docentes Investigadores de Universidades Nacionales: Categorización 2014.

11.2 DIVULGACIÓN

En cada caso indicar si se encuentran depositados en el repositorio institucional CIC-Digital.

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 2016.

2- Becario: Daniela de la Fuente.

Tipo de Beca: Beca Doctoral CONICET.

Director: Andrea Toledo.

Co-Director: Brentassi María Eugenia. Lugar de trabajo: División Entomología Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Título: "Estudio de los endosimbiontes obligados, "yeast-like symbionts", en la especie vectora *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae). Efecto sobre el desempeño del vector y sobre la capacidad biocida del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*".

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

Período: Abril 2017 a Abril 2022.

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.*

Tesis de Doctorado en ejecución

Tema: "Estudio de los endosimbiontes obligados, "yeast-like symbionts", en la especie vectora *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae). Efecto sobre el desempeño del vector y sobre la capacidad biocida del hongo entomopatógeno *Beauveria bassiana*".

Tesista: Daniela de la Fuente.

Directores: Brentassi M.E y Toledo A.V.

Tesis de Doctorado. Plan aprobado por Departamento de Postgrado de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP (Aprobación: 28-12-2017. Resol. Num. 630/17).

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: "Tercer Congreso Internacional Científico y Tecnológico de la Provincia de Buenos Aires". Organizado por la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC). 1 Septiembre de 2016. La Plata. Carácter de participación: Asistencia.

2- Evento: "Jornada de actualización e intercambio en control biológico, comportamental y genético de plagas agropecuarias". Organizada por el PE PNPV1135033. (Programa Nacional de Protección vegetal). Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola. INTA. "Desarrollo de herramientas para el manejo integrado de artrópodos perjudiciales". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 29 de junio de 2016. Carácter de participación: Asistencia y Co-autoría de la presentación oral de la Dra. Andrea Toledo: "Estudio de las interacciones microbianas y generación de conocimientos básicos para la incorporación de los hongos entomopatógenos en un manejo integrado de los hemípteros plaga del maíz". Centro de Investigaciones de Fitopatología (CIDEFI). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. UNLP. La Plata. CONICET.

3- Evento: "3rd Hemipteran - Plant Interactions Symposium".
Tema: EPG monitoring of the probing behavior of the planthopper *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae) on maize (non- preferred host) and oat (preferred host)

Autores: Brentassi, María Eugenia, Álvarez, A.E., Machado-Assefh.

Carácter de participación: Expositor

Ciudad: Madrid. (España). 4 al 8 de Junio de 2017.

4- Evento: "Cuarto 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 de Septiembre de 2017. Universidad Nacional de Quilmes. Carácter de participación: Asistencia.

5- Evento: X Congreso Argentino de Entomología. Sociedad Entomológica Argentina. IADIZA CONICET.

Tema: Reducción de endosimbiontes obligados de *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae) mediante la ingestión de fungicidas y efecto sobre su desempeño. Poster.

Autores: De la Fuente Daniela; Brentassi María Eugenia; Maciá Arnaldo; Toledo Andrea

Carácter de participación: Expositor (Poster)

Universidad Nacional de Cuyo. Chacras de Coria, Mendoza. 21 al 24 de Mayo de 2018.

6- Evento: X Congreso Argentino de Entomología. Sociedad Entomológica Argentina. IADIZA CONICET.

Tema: Endosimbiontes obligados (yeast-like symbionts) del vector *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae). Cultivo e identificación.

Autores: Brentassi M.E ; Toledo A.V; Medina R ; de la Fuente D ; Franco E ; Balatti P.

Carácter de participación: Expositor (Presentación oral)

Universidad Nacional de Cuyo. Chacras de Coria, Mendoza. 21 al 24 de Mayo de 2018.

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

1- EPG Workshop Training Course.

Duración: 8-10 de Junio de 2017

Asistido y Aprobado.

Institución: Instituto de Ciencias Agrarias- CSIC, Madrid, España. Dictado por Prof. Freddy Tjallingii. Carga horaria: 30 hs.

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

1-Tipo de Subsidio: Subsidios para Proyectos de Investigación Científica y Tecnológica

Institución otorgante: Agencia de Promoción Científica y Tecnológica. Tipo: Equipo de Investigación de Reciente Formación.

Título: Organismos simbiosis 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).

Investigador responsable: Brentassi María Eugenia

Grupo Responsable: Brentassi M E y Toledo A.

Grupo Colaborador: Ana Marino de Remes Lenicov, Pedro Balatti, Maciá Arnaldo, Daniela de la Fuente, M.E Cano, Rocío Medina y Franco Bernabei.

Nº de resolución: Resolución Nº 240/16.

Monto: \$ 357.788

Código: PICT 2015-2349

Período: Proyecto trianual. Adjudicado con Fecha 30 de Mayo de 2016.

2- 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: \$12500.

3-Subsidio en el marco de Proyectos de Investigación acreditados. Tema del Proyecto: "Organismos simbiotes de hemípteros auquenorrincos. Efecto de los "yeast-like- symbionts" de *Delphacodes kuscheli*, vector del Mal Río Cuarto del maíz, sobre la capacidad biocida de hongos entomopatógenos "

Director: Brentassi. Ma Eugenia.

Integrantes: Toledo Andrea, Maciá Arnaldo. Colaboradores: De la Fuente Daniela y Franco Bernabei Fecha de Inicio: 01/01/2017. 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 2017). Período: Fecha de Inicio: 01/01/2017 al 31/12/2019. Proyecto bianual. Monto recibido hasta la fecha: \$12.000,00.

4- Subsidio para viajes y/o estadías. Julio 2016 - Junio 2017.

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

Monto: \$ 20000

Motivo: Asistencia a "3rd Hemipteran-Plant Interactions Symposium", Madrid, España.

Duración: 4 al 8 de Junio de 2017.

5- Tipo de Subsidio: Subsidio Institucional para Investigadores CIC.

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

Nº de resolución: 1266/14

Monto: \$ 8750

Duración 5/08/2015 al 5/08/2016

6-Tipo de Subsidio: Subsidio Institucional para Investigadores CIC.

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

Nº de resolución: 305/17

Monto: \$ 16000

Duración 1/11/2017 al 31/05/2018

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.*

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

1- 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: categorización 2014: Categoría otorgada: III).

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. Años 2016 y 2017.

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.*

1-Experiencias previas relacionadas con el estudio del comportamiento alimentario de hemípteros me han permitido interactuar con otros grupos de investigación. Los estudios realizados en colaboración se detallan a continuación:

I- Detección de la fuente de alimentación en Heteroptera (Thaumastocoridae).

Se detectó la principal fuente de alimentación de la chinche del Eucalyptus, Thaumastocoris peregrinus. Este estudio se llevó a cabo en colaboración con la Lic. Marina Santadino quien próximamente presentará su tesis Doctoral en la Fac. de Cs.

Naturales y Museo bajo la dirección del Dr. Carlos Coviella, Universidad Nacional de Luján (UNLu - CONICET). (Trabajo publicado, detallado en ítem 8.1.4).

II- Caracterización del comportamiento alimentario de hemípteros auquenorrincos
- Caracterización del comportamiento alimentario de *Delphacodes kuscheli* a través de la aplicación de la técnica EPG (Electrical penetration Graph). Esta técnica se aplicó por primera vez en el país para una especie de auquenorrinco vectora. La misma permitió evaluar el comportamiento alimentario sobre dos hospedantes que exhiben diferente preferencia para *D. kuscheli*: maíz (hospedante no preferido) y avena (hospedante preferido). (Resumen publicado ítem 8.5.2 y trabajo terminado en vías de enviarse para su publicación, ítem 8.4.1).

2- Estudios taxonómicos de Hemiptera: Fulgoroidea.
- Estudio realizado en colaboración con la Dra. Ana Marino de Remes Lenicov. (Trabajo publicado ítem 8.1.5).

3-Participación en proyectos de investigación acreditados

Tema del Proyecto: "Auchenorrhyncha asociados a plantas hidrófitas en la Argentina. Estudios taxonómicos y biológicos sobre su accionar como enemigos 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.

Código: N 730.

Período: 01/01/2014 al 31/12/2017.

4- Arbitraje externo:

Tesis doctorales:

I- Evaluación de plan de tesis doctoral: Interacción planta - áfido: rol de la senescencia foliar en la interacción entre plantas de *Solanum tuberosum* y el áfido *Myzus persicae*. Doctorado en Ciencias Biológicas. Escuela de Posgrado. Universidad Nacional de Salta. Postulante: Lic. Agustín Ignacio López. Directora: Dra. Adriana Álvarez. Codirectora: Dra. Cristina Renata Machado Assefh. Junio 2017.

Manuscritos Científicos:

1- Revisor externo. Revista Microbial Ecology. ISSN: ISSN: 0095-3628. Junio 2017.

2- Revisor externo. Revista Microbial Ecology. ISSN: ISSN: 0095-3628., Diciembre de 2017.

22. TITULO, 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

Para el próximo período se propone proseguir con el estudio de los endosimbiontes del tipo "yeast-like-symbionts" (YLS) en *Delphacodes kuscheli* (Hemiptera: Delphacidae), principal vector del virus del Mal de Río Cuarto del maíz (MRCV). Teniendo en cuenta los logros obtenidos hasta el momento, para el próximo período, se proponen las siguientes actividades:

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

2- Probar otros medios de cultivos y condiciones para lograr el aislamiento in vitro de otras especies de "yeast-like symbionts".

3- Proseguir con los estudios moleculares (metagenómicos) a fin de conocer la diversidad de 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 *D. kuscheli*.

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

Este objetivo es parte del plan de tesis doctoral de la Lic Daniela de la Fuente. Se trabajará en forma conjunta con la Dra Andrea Toledo (Inv del CONICET) quien también es director de la tesis doctoral mencionada y quien ha evaluado desde el año 2002 el accionar de los hongos entomopatógenos sobre la mortalidad de hemípteros auquenorrincos de importancia fitosanitaria. Los insectos se inocularán con una suspensión de conidios de 1 x 10⁸ 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 simbiotes + *B. bassiana* e insectos sub-simbióticos + *B. bassiana*) y controles (insectos con la carga normal de simbiotes 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, Personal de apoyo CIC, quien participa como miembro integrante de los proyectos y participó como codirector de las beca CIN arriba mencionada.

2- Probar otros medios de cultivos y condiciones para lograr el aislamiento in vitro de otras especies de "yeast-like symbionts".

Se probarán diferentes medios descritos en la literatura, los cuales resultaron exitosos para el cultivo in vitro de ciertas especies de yeast like symbionts asociadas a delfácidos plaga del arroz en Asia.

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

Se trabajará con huevos, ninfas y adultos de *Delphacodes kuscheli*. El material de partida se esterilizará siguiendo técnicas convencionales y, en el caso de las ninfas y adultos, se procederá a extraer, mediante disecciones bajo lupa binocular, los cuerpos grasos (órganos que alojan a los endosimbiontes). El análisis arrojado, luego de aplicar la técnica Illumina MiSeq (Servicio Mr DNA) se evaluará y analizará con la participación de la Lic Rocío Medina y el Lic Ernesto Franco quienes desarrollan sus tareas de investigación bajo la dirección del Dr. Pedro Balatti en el Centro de Investigaciones en Fitopatología (CIDEFI).

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 auquenorrhincos 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.