

INFORME CIENTIFICO DE BECA

Legajo N°:

BECA DE Estudio **PERIODO** 1 de abril de 2014 - 31 de marzo de 2015

1. APELLIDO: FRANCO

NOMBRES: María Fiorella

Dirección Particular: Calle: *N°:*

Localidad: Balcarce *CP:* 7620 *Tel:*

Dirección electrónica (donde desea recibir información): franco.fiorella14@gmail.com

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

Determinación de la presencia de endófitos y nivel cromosómico en poblaciones naturales de gramíneas relevadas en el sudeste bonaerense.

3. OTROS DATOS (Completar lo que corresponda)

BECA DE ESTUDIO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/2014

2º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/2015

BECA DE PERFECCIONAMIENTO: 1º AÑO: *Fecha de iniciación:* 01/04/2015

2º AÑO: *Fecha de iniciación:*

4. INSTITUCIÓN DONDE DESARROLLA LOS TRABAJOS

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

Facultad: Ciencias Agrarias

Departamento: Introducción a las Ciencias Agrarias

Cátedra: Genética (Directora) - Biología (Co-Directora)

Otros: -

Dirección: Calle: Ruta Nacional 226, km 73.5 *N°:* CC276

Localidad: Balcarce *CP:* 7620 *Tel:* 2266-430456

5. DIRECTOR DE BECA

Apellido y Nombres: ECHEVERRÍA María de las Mercedes

Dirección Particular: Calle: *N°:*

Localidad: Balcarce *CP:* 7620 *Tel:*

Dirección electrónica: echeverria.maria@inta.gob.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).

Durante el período de beca realicé mi postulación al Programa de Posgrado en Producción Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP. A partir del día 1 de marzo del 2014 fui aceptada como alumna de la Maestría en Manejo y Conservación de Recursos Naturales para la Agricultura. Por este motivo elaboré y defendí el proyecto de Tesis (que engloba el proyecto de esta beca) ante las autoridades del Posgrado, el cual fue aprobado.

En forma paralela con las actividades desarrolladas para el cumplimiento de los objetivos de esta beca, realicé y aprobé varios cursos para el cumplimiento de las horas curriculares exigidas por la Maestría. (Adjunto Certificado Analítico a la fecha).

Así mismo, para el cumplimiento de las horas especiales de la Maestría desarrollé actividades docentes como Auxiliar Adscripta en dos asignaturas: Biología General y Botánica Morfológica (O.C.A. N° 570/14) y Mejoramiento Genético (O.C.A. N° 854/14) (FCA-UNMdP) en el primer y segundo cuatrimestre respectivamente. Esto requirió la preparación previa de las clases prácticas y la asistencia a las mismas. (se adjunta Certificación correspondiente). También desarrollé actividades como Asesora de una Tesis de grado titulada "Incidencia de hongos endófitos asintomáticos y anatomía foliar en gramíneas ornamentales" (Preproyecto en trámite. FCA).

Las tareas de investigación desarrolladas se detallan a continuación:

1. Colecta: Se realizó la colecta de las diferentes especies de gramíneas a estudiar, durante su estado reproductivo.

Las especies nativas y naturalizadas del Sudeste Bonaerense, que fueron colectadas fueron: *Lolium multiflorum*; *Thinopyrum ponticum* (= *Agropyron elongatum*); *Nasella trichotoma* (= *Stipa trichotoma*), *N. neesiana* (= *S. neesiana*), *N. megapotamia* (= *S. megapotamia*). *Sporobolus indicus*, y *Botriochloa laguroides* (especies de valor forrajero) y *Poa iridifolia* (de valor ornamental). Para ello, se organizaron y realizaron viajes de colecta junto a un docente de la asignatura Botánica Agrícola (asesor de mi Tesis de Maestría). En los mismos se muestrearon de 2-4 poblaciones/especie. Esto permitió obtener un total de 24 poblaciones. De cada población se cosecharon 30 plantas. El método de cosecha fue por derivación (las semillas provenientes de cada planta se almacenaron en sobres individuales). Una vez obtenidas las semillas de las plantas, se mantuvieron por 72 hs a temperatura ambiente para favorecer la pérdida de humedad y evitar contaminaciones posteriores con patógenos. Transcurrido este período de secado, las semillas se almacenaron en una cámara fría a 4°C de temperatura y 4%-5% de humedad relativa. Debido a la dificultad para acceder a los sitios de origen de las especies *Festuca pampeana* y *F. ventanícola* (propuestas en el plan original) las mismas fueron reemplazadas por *Botriochloa laguroides* y *Sporobolus indicus*, considerando, además, la importancia de estas últimas como forrajeras.

2. Diagnóstico de endófito: Se llevó a cabo el diagnóstico de la presencia del hongo endófito *Epichloë* spp. (ex *Neotyphodium*) en las semillas colectadas. De cada población cosechada se tomaron 90 semillas (3 semillas/planta). Para efectuar el diagnóstico se realizó un pretratamiento de las mismas, el cual consistió en sumergirlas en hidróxido de sodio (NaOH) durante un período de 15-16 hs a temperatura ambiente. Transcurrido este período, se procedió a enjuagar las semillas, separarles las brácteas mediante la utilización de agujas histológicas previamente esterilizadas, y efectuar su tinción directa con el colorante rosa de bengala durante 2-3 minutos. Se realizó la observación individual de las células aleuroníferas bajo microscopio óptico (Aumento 400x).

Como resultado de esta actividad: solamente se detectó la presencia del endófito en la especie *Lolium multiflorum* Lam. Las 3 poblaciones colectadas de esta especie mostraron

elevados niveles de infección con el endófito: 93,33%, 66,66% y 62,22% respectivamente. Las restantes especies estudiadas estuvieron libres de infección con el endófito.

3. Siembra de semillas y poder germinativo: Se sembraron las tres poblaciones de *Lolium multiflorum*. Debido a que en cada población colectada se encontraron plantas infectadas (E+) y no infectadas (E-) con el hongo, no fue necesaria la siembra de semillas E+ y aplicación de fungicidas para matar al hongo tal como se había propuesto en el plan de trabajo original. En este sentido se tomaron 50 semillas E+ y 50 semillas E- de cada una de las tres poblaciones de *L. multiflorum*. Las mismas se sembraron en bandejas de germinación, se llevaron a heladera a 8°C por 48 hs para romper la dormancia. Luego se llevaron 14 días a cámara a 25°C. Pasado este período se realizó el poder germinativo de las semillas de las tres poblaciones. Se obtuvieron altos valores de poder germinativo. Para las plantas infectadas los valores fueron de 96,7%, 96,77 y 100% para las tres poblaciones respectivamente; y para las plantas libres de infección fueron: 83,88%, 72,42% y 96,77% respectivamente.

4. Transplante en invernáculo: Las plántulas obtenidas fueron transplantadas a los 14 días en un invernáculo de la UIB (Unidad Integrada Balcarce. FCA-EEA INTA Balcarce), bajo un Diseño Completo Aleatorizado con arreglo factorial con 25 repeticiones. Los tratamientos estuvieron constituidos por la combinación del factor "Población" con el factor "Condición de la infección". Los mismos fueron: Pob 1-E+, Pob 1-E-, Pob 2-E+, Pob 2-E-, Pob 3-E+, Pob 3-E-. La unidad experimental fue cada maceta con una planta. El ensayo se regó en forma diaria.

5. Cortes y fijación del material: Cuando las plantas cumplieron los 70 días de edad (contando desde su siembra en bandeja), se procedió a cortar 3 láminas y 3 vainas de cada planta, las cuales fueron colocadas en tubos Falcon individuales con FAA (formol: alcohol: ac. acético en proporción 2:10:1) para su conservación hasta el momento de realización de los cortes histológicos foliares.

También a los 70 días se cortaron varias raíces de cada planta y se comenzó con el protocolo para efectuar posteriormente los recuentos cromosómicos.

6. Recuento cromosómico de *Lolium multiflorum*: Las raíces cortadas cuando las plantas alcanzaron los 70 días de edad se colocaron en forma individual en frascos de vidrio con 8-hidroquinoleína 0,002M durante 4h (para la detención del huso mitótico). Transcurrido ese tiempo se fijaron en una solución de etanol y ácido acético (3:1, v/v) durante 24h y se almacenaron en etanol 70%, a 4°C hasta el momento de efectuar los recuentos.

Se comenzaron a realizar los recuentos cromosómicos. Para ello las raíces fijadas, se hidrolizaron en HCl 1N a 60°C durante 10 min y se colorearon con fuccina durante una hora. La observación y recuento al microscopio óptico se realizó con aumentos de 400x y 1000x.

Esta tarea aún se está llevando a cabo.

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.)

Franco MF, Colabelli MN, Petigrosso LR, De Battista JP, Echeverría MM. 2015 Evaluation of infection with endophytes in seeds of forage species with different levels of ploidy. New Zealand Journal of Agricultural Research. Nueva Zelanda. (ID:1011283 DOI:10.1080/00288233.2015.1011283) (Online)

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)

Caracterización por presencia de endófitos en gramíneas de valor forrajero y ornamental colectadas en diferentes áreas del sudeste bonaerense.
Franco, MF; Colabelli MN; Ispizúa VN; Echeverría, MM; Franco, MR.

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

Franco, M.F.; Colabelli, M.N.; Delgado, S.G.; Peretti, A. 2014. Incidencia de infección con endófito en semillas de raigrás perenne de diferente origen y clase. 37° Congreso AAPA – 2nd Joint Meeting ASAS-AAPA – XXXIX Congreso de la Sociedad Chilena de Producción Animal. 20-22/10/2014. Buenos Aires, Argentina.

7.6. TRABAJOS EN REALIZACIÓN. (Indicar en forma breve el estado en que se encuentran)
"Recuento cromosómico de tres poblaciones de *Lolium multiflorum* colectadas en el sudeste bonaerense"
Franco, MF; Echeverría, MM; Colabelli, MN.
Estado: Terminando la parte experimental y realizando escritura de un Resumen para presentar al Congreso de Genética a realizarse este año en la Ciudad de Mar del Plata. Bs. As. Argentina.

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)

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)

-Durante el desarrollo de la Beca llevé a cabo cursos correspondientes a la oferta académica del Postgrado en Prod. Vegetal de la Facultad de Cs. Agrarias de la UNMdP:

- Adiestramiento en SAS. (36 hs. Aprobado)
- Clínica Fitopatológica (60 hs. Nota Final: 10)
- Métodos Estadísticos I (48 hs. Nota Final: 10)
- Diseño Experimental I (30 hs. Nota Final: 9)
- Encuadre Metodológico de la Redacción Científica (48 hs. Aprobado)
- Ciclo de Seminarios (cursando actualmente)
- Métodos Estadísticos II (30 hs. Nota Final: 10)
- Genética de las Plantas (72 hs. Nota final:10)

Otros cursos o charlas a las cuales asistí durante el período de la Beca fueron:

EL DESAFÍO DE NUESTRAS PROFESIONES

Fecha: 06 de mayo de 2014.

Organizada por: FCA-UNMdP y CPIA "El Consejo de los Profesionales del Agro, Agroalimentos y Agroindustria"

Lugar: FCA UNMdP. Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

CAPACITACIÓN EN NORMAS BÁSICAS DE HIGIENE Y SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Fecha: 14 de abril de 2014

Organizada por: La Subdelegación CyMAT del INTA Balcarce y el Referente en Higiene y Seguridad de la EEA Balcarce.

Lugar: Auditorium del Área de Agronomía. UIB, Buenos Aires, Argentina.

Disertante: Leonardo Marcucci (Referente local de Higiene y Seguridad)

-CAPACITACIÓN SOBRE SEGURIDAD EN LABORATORIOS

Fecha: 27 de Agosto 2014

Organizada por Unidad Integrada Balcarce Estación Experimental Agropecuaria- Facultad de Ciencias Agrarias.

Lugar: Auditorium del Área de Agronomía. UIB, Buenos Aires, Argentina.

Disertante: Leonardo Marcucci (Referente local de Higiene y Seguridad)

11. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO

Diploma Graduado Distinguido en reconocimiento al desempeño académico, de acuerdo a lo establecido por la O.C.S. N° 264/92

Entidad promotora: Universidad Nacional de Mar del Plata.

Fecha: 17 de junio de 2014.

12. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO

Categoría y dedicación: Auxiliar Adscripta a la Docencia (O.C.A.: 570/14)

Unidad Académica: Facultad de Ciencias Agrarias. UNMdP

Actividades desarrolladas en cada cargo: Conducción y supervisión de los alumnos durante las clases prácticas. Recolección de material vegetal para los trabajos prácticos.

Nivel: grado.

Período de designación: 01/04/14 a 31/07/14.

Asignatura: Biología General y Botánica Morfológica

Categoría y dedicación: Auxiliar Adscripta a la Docencia (O.C.A.: 854/14)

Unidad Académica: Facultad de Ciencias Agrarias. UNMdP

Actividades desarrolladas en cada cargo: Conducción y supervisión de los alumnos durante las clases prácticas. Preparación previa de los trabajos prácticos.

Nivel: grado.

Período de designación: 28/10/14 a 31/12/14.

Asignatura: Mejoramiento Genético

Colaboración en la Capacitación de Médicos Veterinarios Residentes sobre la detección de hongos endófitos en semillas y plantas de festuca y raigrás. Unidad Integrada Balcarce, 10 de junio de 2014.

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)

Asesora de Tesis para optar al título de Ingeniero Agrónomo, titulada "Incidencia de hongos endófitos asintomáticos y anatomía foliar en gramíneas ornamentales" Preproyecto en trámite. Facultad de Cs. Agrarias, UNMdP.

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)

"Efecto de la presencia de endófitos asintomáticos sobre la anatomía foliar de poblaciones de *Lolium multiflorum* colectadas en el sudeste bonaerense"

- Puesta a punto del protocolo de tinciones con colorantes (Safranina y Fast-Green) y lavados con alcoholes (Alcohol 90°, 96° y 100°) a diferentes tiempos.
- Obtención de cortes histológicos foliares en plantas de raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) infectadas (E+) y libres de indección (E-) pertenecientes a tres poblaciones.
- Tinción de los cortes con el protocolo puesto a punto previamente.
- Obtención de preparados semidefinitivos.
- Toma de fotografías con Microscopio Olympus BX51 con Cámara incorporada con aumentos de 40x, 200x y 400x.

Medición de variables anatómicas foliares (espesor de mesófilo, número de haces vasculares, área y diámetro del haz vascular central y los dos laterales contiguos y proporción de tejido esclerenquimático subepidérmico) mediante la utilización del software ImageJ.

- Análisis de los datos obtenidos con el software estadístico R Core Team (2013).

Durante el período de prórroga se realizarán además las siguientes tareas:

-Cursos correspondientes al Área de Postgrado en Cs de las plantas y RRNN de la Facultad de Cs. Agrarias de la UNMdP, para completar los requerimientos de la Maestría en Producción Vegetal:

- * Genética Cuantitativa
- * Relevamiento y Muestreo de Recursos Genéticos
- * Biodiversidad y Recursos Genéticos
- * Caracterización y Evaluación de Germoplasma Vegetal
- * Conservación y Documentación de Germoplasma Vegetal

- Continuar con asesoramiento de tesis de grado
- Continuar con actividades docentes.
- Práctica en el Banco de Germoplasma de la Estación Experimental INTA Balcarce.
- Toma de datos de los ensayos propuestos y análisis de los mismos.
- Escritura de tesis de maestría
- Escritura de trabajos científicos
- Presentaciones y asistencias a congresos

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