



XIII SIMPOSIO REDBIO ARGENTINA 2021

“La Biotecnología como Solución a
Desafíos Pasados, Presentes y Futuros”

7 AL 11 DE JUNIO DE 2021

MODALIDAD VIRTUAL



Comisión Directiva de REDBIO Argentina AC

Presidente: Marisa López Bilbao –INTA

Secretaria: Eleonora Campos –INTA

Tesorero: Alejandro Escandón –INTA

Vocal 1ero: Patricia Marconi –CONICET

Vocal 2do: Sandra Sharry –UNLP

Vocal 3ero: María Patricia Benavides –CONICET

Vocal Suplente 1: Sebastián Moschen –INTA

Vocal Suplente 2: Patricia Boeri –CONICET

Fiscal 1ero: Ezequiel Bossio –INTA

Fiscal 2do: Laura Radonic –INTA

Fiscal 3ero: Pamela Villalba –INTA

Comisión Organizadora REDBIO 2021

Marisa López Bilbao (Presidente)

Sandra Sharry (Vicepresidente)

Eleonora Campos

Laura Radonic

María Carolina Martínez

María Patricia Benavides

Patricia Marconi

Ezequiel Bossio

Sebastián Moschen

Alejandro Escandón

Pamela Villalba

Comisión Científica REDBIO 2021

Atilio Castagnaro
Viviana Echenique
Eduardo Blumwald
Adrián Vojnov
Esteban Hopp
Graciela Salerno
María Rosa Marano
Elizabeth Agostini
Ruth Heinz
Alejandro Mentaberry
Gabriela Levitus
María de la Paz Santángelo
Clara Rubinstein

Diseño web y editorial: María Belén Monini
mbmonini@gmail.com

ÍNDICE

DISERTANTES.....	2
Resúmenes de disertaciones.....	36
Apertura del XIII Simposio REDBIO2021	36
¿Seguir o no seguir? La paradoja expuesta a través del pasado, presente y futuro de los transgénicos de segunda generación; el análisis a través de un desarrollo nacional.....	37
Acompañar al Biondesarrollo: propuestas para desafíos pendientes	38
Polvo de estrellas, extremófilos y biotecnología: una historia de transformaciones	39
INCUINTA: Aplicación de las plataformas de nanoanticuerpos recombinantes y de Anticuerpos IGY como herramientas para diagnóstico y tratamiento al SARS COV2	40
Tecnología de Amplificación Isotérmica (LAMP) para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y en salud humana.....	41
COVIDAR IgG y COVIDAR IgM, dos kits desarrollados y elaborados en Argentina de gran utilidad en el sector público y privado de salud en relación al manejo del COVID-19	43
Control del ciclo celular y resistencia a la salinidad y la sequía: «to WEE1 or not to WEE1”	44
Funciones y Aplicaciones del Sistema GRF-GIF: de la Regulación de Células Madre a la Regeneración en Plantas y Edición Génica de Cultivos.....	45
Edición del gen Gn1a en la variedad de arroz LLanura 11 (japónica) para aumentar el número de granos usando CRISPR-Cas9	46
Presente y futuro de la edición génica de papa en Argentina	47
El poder de las sinergias para desarrollar una mejor agricultura con CRISPR	49
Xenotrasplante: Un nuevo enfoque biotecnológico para los animales genéticamente modificados de uso agropecuario.....	49
De la transgénesis a la edición génica en animales de producción.	51
Avances en clonación y edición génica en equinos.....	52
Modelado y corrección de enfermedades genéticas mediante CRISPR y células madre pluripotentes inducidas.....	54
Secuenciación y análisis del genoma de coníferas: estudio de Pinus pinaster	56
Biodiversidad de trigo: el camino para afrontar la seguridad alimentaria y el cambio climático Wheat biodiversity: the way to face food security and climate change.....	58
Avances ómicos y mejoramiento genético para la seguridad alimentaria en África y Asia.....	59
Genómica y fertilidad en el caballo: Donde estamos y hacia dónde vamos.....	59
Ambiente uterino y programación fetal en bovinos: una mirada desde lo ómico	61
Aplicación de tecnologías -ÓMICAS para acelerar la mejora genética animal: casos prácticos	62
Bioteología e impacto social Bioteología vegetal, cómo los productos llegan (¿llegan?) a la sociedad.	63

Desarrollo de tecnologías avanzadas de microalgas para una economía circular.....	64
Procesos industriales relacionados con la producción de microalgas	65
Bacterial Synthetic Biology as a strategy towards production of value-added xeno-compounds	67
Desarrollo del cultivo <i>in vitro</i> de Yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) en la BioFábrica de la Universidad Nacional de Hurlingham, para generar foco productivo en la región y elaboración de alimentos en base a este cultivo con propiedades nutritivas y fitomedicinales (o nutraceuticas).	67
Activación de la respuesta de defensa contra el patógeno <i>Botrytis cinerea</i> mediada por un compuesto producido por el patógeno <i>Colletotrichum acutatum</i> en frutilla.....	69
La bioeconomía y la transformación de los sistemas alimentarios de América Latina y el Caribe	70
Bosques del siglo XXI: Hacia una economía circular en el ámbito forestal.....	71
Ecosistema de Biotecnología Industrial del Ecuador: retos y oportunidades para una circularización económica.	73
Resúmenes de trabajos científicos.....	74
Biotecnología Animal	76
BA1. Efecto del ácido alfa lipoico sobre el desarrollo preimplantacional bovino y la calidad embrionaria <i>in vitro</i>	76
BA2. Plataforma de suplementación de oligonutrientes para aplicación en medicina veterinaria.	77
BA3. Impacto de la nueva vacuna a subunidad direccionada contra el VDVb en un tambo con problemas reproductivos Bellido, D* (1,2); Tibaldo Rubiolo, F (2); Sueldo, P (2); Baztarrica, J (1,2); Wigdorovitz, A. (1,3).....	78
BA4. Generación de deleciones en GGTA1 en embriones porcinos asistida por CRISPR-Cas9 como ADN o como complejo (proteína y ARN).....	80
BA5. Análisis de Bloques de Homocigosidad en cabras lecheras españolas para estimar la endocría a nivel genómico	81
Bioeconomía y Comunicación	85
BC1. El desafío de salir de la “zona de confort” para comunicar biotecnología: la experiencia de ArgenBio a través del proyecto Infoalimentos.....	85
BC2. Los desafíos de comunicar sobre edición génica de plantas: lecciones aprendidas	86
BC3. La biotecnología como herramienta social	88
BC4. Residuos lignocelulósicos de México y su potencial aplicación en la producción de etanol	89
BC5. ¿Cuidamos lo que logramos con la biotecnología?	91
BC6. Edición génica: evolución en el tratamiento regulatorio.....	92
BC7. Una segunda oportunidad para los residuos vitivinícolas locales: recuperación de compuestos antioxidantes del orujo de uva	93
BC8. Valorización de subproductos olivícolas mediante la recuperación, purificación y concentración de antioxidantes naturales.....	94
BC9. Evaluación de antioxidantes naturales obtenidos de subproductos olivícolas	95

BC10. Métodos y tecnologías de propagación y domesticación de plantas para el desarrollo de una bioeconomía local basada en la biodiversidad	97
BC11. Edición génica por CRISPR-Cas9: delimitación ética en el mejoramiento genético vegetal.....	98
Biotecnología de Microorganismos.....	102
BM1. Red RENUWAL: red CYTED iberoamericana para el tratamiento de efluentes con microalgas	102
BM2. Caracterización de levaduras aisladas de kefir como potenciales agentes de control biológico en especies de <i>Aspergillus</i>	103
BM3. Estudio de un proceso de bioestimulación de microorganismos autóctonos en suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo de la cuenca neuquina	105
BM4. Producción de carotenoides por <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> , reutilizando un desecho de la industria olivícola.....	106
BM5. Producción de N-acil homoserín lactonas por la rizobacteria <i>Burkholderia</i> sp. y rol de los sistemas de quorum sensing sobre actividades biocontroladoras de fitopatógenos fúngicos de maní	107
BM6. Tratamiento biológico acoplado a fotocatálisis para la degradación eficiente de efluentes de la industria textil.....	109
BM7. Sucesión temprana de cepas bacterianas procedentes de comunidades multiespecie asociadas como biofilm en la rizósfera de alfalfa	110
BM8. Posición filogenética y características simbióticas de cepas de <i>Mesorhizobium</i> utilizadas como inoculantes de garbanzo	112
BM9. Evaluación del secretoma de <i>Pycnoporus sanguineus</i> obtenido sobre diferentes fuentes de carbono, y su potencial uso industrial	113
BM10. Bioprospección de enzimas activas sobre carbohidratos codificadas en el genoma de <i>Pycnoporus sanguineus</i>	114
BM11. Actividad (hemi)celulolítica de <i>Paenibacillus xylanivorans</i>	116
BM12. Selección de estrategias biológicas de remediación para el tratamiento de efluentes de curtiembre.....	117
BM13. Actividad antimicrobiana de cepas del género <i>Burkholderia</i> contra fitopatógenos de relevancia agronómica	118
BM14. Impacto de las nanopartículas de magnetita sobre <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	119
BM15. Optimización de la nodulación de la soja por exposición bacteriana a nanopartículas de magnetita	121
BM16. Optimización del escalado de la producción de un agente de biorremediación para el tratamiento de efluentes de curtiembre	122
BM17. Bioprocesos para la biorremediación de aguas contaminadas utilizando microalgas autóctonas.....	124
BM18. Caracterización de cepas autóctonas de <i>Streptomyces</i> como potenciales agentes de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal	125
BM19. Desarrollo de una vacuna recombinante contra la coccidiosis aviar	126

BM20. Evaluación del efecto antifúngico de matrices metabólicas de <i>Ganoderma lucidum</i> sobre <i>Pseudocercospora fijiensis</i> Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra a nivel <i>in vitro</i>	128
BM21. Evolución dirigida de toxinas de <i>Bacillus thuringiensis</i> para el control del picudo del algodón (<i>Anthonomus grandis</i>) mediante la técnica de phage display.....	129
BM22. Desarrollo de tensioactivos catiónicos derivados de aminoácidos con actividad biocida y potencial aplicación para el control de bacterias y levaduras.....	131
BM23. Microorganismos con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados de un suelo de Tierra del Fuego crónicamente contaminado con petróleo	132
BM24. Respuestas fisiológicas de materiales de soja en simbiosis con micorrizas bajo estrés por sequía.....	134
BM25. Aislamiento y caracterización morfológica de bacterias del género <i>Bradyrhizobium</i> provenientes de parcelas agrícolas del Chaco central paraguay	135
BM26. Aislamiento de <i>Pseudomonas fluorescens</i> de zonas agrícolas de Paraguay	136
Biotecnología Vegetal	139
BV1. La sobre-expresión del factor de transcripción Ha-NAC01 de girasol promueve la senescencia foliar en plantas transgénicas de petunia.....	139
BV2. Tecnología de silenciamiento génico para resistencia al picudo en el algodón: resultados preliminares en la generación T1	140
BV3. Caracterización de metalotioneínas de algas para su uso en biorremediación de metales pesados.....	141
BV4. Aislamiento del promotor de un gen de Metalotioneína Tipo II de yerba mate y construcción de un vector para su uso en transformación.....	143
BV5. Una nueva estrategia para la recuperación <i>in situ</i> de antraquinonas en cultivos <i>in vitro</i> de raíces transformadas de <i>Rubia tinctorum</i> basada en el agregado de hexadecano y dodecano.....	144
BV6. Knock-out vía CRISPR/Cas9 del gen SPL13 en lechuga	145
BV7. Edición de base del gen de la acetolactato sintasa de lechuga	146
BV8. Identificación en papas andinas de nuevas regiones genómicas relacionadas al endulzamiento inducido por frío.....	148
BV9. Transformación genética de papa cultivar Spunta para aumento de la tolerancia a estrés hídrico	149
BV10. Caracterización del proceso de senescencia foliar en girasol a partir de la toma de imágenes a campo.....	151
BV11. Optimización de un diseño experimental para el estudio de la interacción <i>Citrus</i> - <i>Candidatus Liberibacter</i> spp., causante de la enfermedad <i>HuangLongBing</i> mediante análisis de RNA-seq.....	152
BV12. Caracterización molecular de cultivares de pecán, <i>Carya illinoensis</i> , para su identificación y análisis de diversidad genética	154
BV13. Efecto de bacterias rizosféricas nativas en el enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Handroanthus impetiginosus</i>	155

BV14. Cultivos Bt: estrategias para retrasar el desarrollo de resistencia en poblaciones de insectos blanco.....	157
BV15. Efecto de LEC2 sobre la expresión de proteínas heterólogas en hojas de <i>Nicotiana benthamiana</i>	158
BV16. Selección de individuos de algodón mutagenizados en generación M4, en respuesta a estrés hídrico y salino.....	159
BV17. Estudio del efecto de diferentes dosis de mutágenos físicos y químicos sobre plantas de algodón.....	161
BV18. Cultivo de callos y desarrollo de un protocolo de micropropagación de <i>Stevia maimarensis</i>	162
BV19. Inmovilización de la enzima de hiosciamina 6 β -hidroxilasa a hidrogeles de quitina para su reutilización en la producción de anisodamina y escopolamina.....	164
BV20. Selección de macrófitas acuáticas para la fitorremediación de efluentes domiciliarios y de curtiembre de la Provincia de Córdoba.....	166
BV21. Modulación del ciclo de cultivo de <i>Solanum tuberosum</i> : Identificación de los componentes del reloj circadiano	167
BV22. Obtención de plantines de yacón (<i>Smallanthus sonchifolius</i>) mediante micropropagación in vitro	168
BV23. Efectividad de la acción combinada de quitosano y la bacteria PGPR <i>Pseudomonas protegens</i> CHA0 en el crecimiento de plantas de tomate	170
BV24. Nuevos productos de protección vegetal basados en nanoarcillas funcionalizadas.....	171
BV25. Identificación de viroides en la región citrícola de Río Uruguay	172
BV26. Variabilidad genética y mapeo por asociación para tamaño y forma de grano de trigo candeal (<i>Triticum turgidum</i> L. var. <i>durum</i>)	173
BV27. Caracterización de la región genómica ligada al locus determinante de la apomixis en <i>Eragrostis curvula</i>	174
BV28. Análisis genéticos en <i>Bacharis salicifolia</i> (Asteraceae) utilizando marcadores AFLPs	176
BV29. Familia de genes Snakin/GASA de <i>Solanum tuberosum</i> : estudio funcional de Snakin-3	177
BV30. Un abordaje molecular para entender el proceso de transferencia viral vía plasmodesmos durante la infección sistémica de ADV en alfalfa.....	178
BV31. Evaluación de la resistencia a patógenos y caracterización metabólica de cultivares de papa producidos en el Cinturón Hortícola de Rosario	179
BV32. Caracterización de péptidos antimicrobianos de origen endógeno como estrategia biotecnológica para mitigar el impacto del Huanglongbing y otras enfermedades bacterianas de cítricos	181
BV33. Nuevas tecnologías de producción vegetal frente al cambio climático: Mejoras de rendimiento en condiciones de sequía y alto CO ₂	182

BV34. Multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Aloysia gratissima</i> (Gill. et Hook) Troncoso (cedrón del monte, usillo), especie silvestre aromática de interés comercial, como alternativa para su conservación y producción.....	184
BV35. Comparación de diferentes medidas de parentesco basadas en la noción de identidad por descendencia e identidad por estado en una población de selección de <i>Eucalyptus dunnii</i>	185
BV36. Expresión del factor de crecimiento fibroblástico básico humano recombinante en plantas transplastómicas de <i>Nicotiana tabacum</i>	187
BV37. Caracterización molecular mediante genotipificación por secuenciación de las razas VArg1 y VArg2 de <i>Verticillium dahliae</i> patogénicas de girasol.....	188
BV38. Purificación y caracterización parcial de un nuevo inhibidor de tripsina con actividad antifúngica obtenido a partir de semillas de morrón amarillo	190
BV39. Desarrollo de técnicas para el análisis de la fluidez de las membranas de duraznos sometidos a distintos tratamientos poscosecha.....	191
BV40. Efectos de las diferencias en metilación del ADN de inflorescencias en el modo reproductivo de <i>Eragrostis curvula</i>	192
BV41. Temperaturas elevadas durante el almacenamiento de semillas. Relación entre el estado redox y las modificaciones del perfil metabólico-hormonal en el desarrollo de la planta	194
BV42. El rol de TGS1 en el procesamiento de ARNs durante el desarrollo reproductivo de <i>Paspalum notatum</i>	195
BV43. Regulación del crecimiento del brote y la translocación de azúcares en tubérculos de plantas de papa que sobreexpresan la bomba de protones PHA1 de <i>Solanum tuberosum</i>	196
BV44. La subunidad catalítica de la fosfatasa de proteínas 2A (StPP2Ac2b) está involucrada en el control de la brotación de los tubérculos en <i>Solanum tuberosum</i> Spunta	198
BV45. Análisis comparativo de la tolerancia a arsénico de bacterias rizosféricas y su efecto sobre propiedades promotoras del crecimiento vegetal.....	199
BV46. Mejoramiento de la calidad nutricional del tubérculo de papa: aumento del contenido de hierro.....	201
BV47. Desarrollo de plantas de trigo (<i>Triticum aestivum</i> L.) y maíz (<i>Zea mays</i> L.) con expresión constitutiva de variantes de Cas9.....	202
BV48. Secuenciación de Nueva Generación como herramienta para la caracterización de eventos transgénicos de trigo	203
BV49. Inducción <i>in vitro</i> de callos en <i>Prunus persica</i> (L. Batsch) y análisis preliminar de su control genético	204
BV50. La co-inoculación como herramienta biotecnológica para reducir los efectos tóxicos y la acumulación de arsénico en plantas de soja.....	205
BV51. El priming de semillas de trigo con espermina evitó el desequilibrio redox inducido por cadmio en la raíz	207
BV52. Optimización de un protocolo de secuenciación de genoma completo de baja redundancia para girasol cultivado	208

BV53. Mecanismo de acción del efector TAL PthA4AT y su rol como controlador biológico en <i>Nicotiana benthamiana</i>	210
BV54. Las poliaminas como agentes de priming en trigo en condiciones de deficiencia de nitrógeno: estudios preliminares	211
BV55. Análisis fisiológico y molecular de genotipos de maíz contrastantes para la tolerancia a estrés térmico.....	212
BV56. Un análogo de brasinoesteroide confiere tolerancia a la sequía en soja.....	214
BV57. La subtilasa fúngica AsES induce la activación de la inmunidad antiviral en plantas	215
BV58. Bioprospección de metabolitos secundarios con potencial actividad antioxidante en harinas integrales del fruto de <i>Prosopis caldenia</i> Burkart de diferentes ecorregiones.....	216
BV59. Mapeo de QTLs en <i>Carthamus tinctorius</i> L.....	218
BV60. Selección <i>in vitro</i> de plantas mutantes de zarzamora (<i>Rubus fruticosus</i> Cv. Tupi) resistentes a <i>Botrytis cinerea</i> a partir de ápices irradiados con rayos gamma.....	219
BV61. Estudios de Mapeo por Asociación para la identificación de regiones genómicas involucradas en la resistencia a la avispa de la agalla y cancro del tallo en <i>Eucalyptus grandis</i>	221
BV62. La inmunización oral con una proteína de choque térmico vegetal (Hsp90) – fusionada a un péptido del antígeno de superficie 1 (SAG1) de <i>Toxoplasma gondii</i> y producida en plantas de tabaco provoca fuertes respuestas inmunes y reduce el número de quistes y los signos clínicos de toxoplasmosis en ratones	222
BV63. Estrategias para la obtención de variedades de arroz tolerantes a condiciones de estrés abiótico mediante edición génica.....	224
BV64. Resultados preliminares para la propagación <i>in vitro</i> de <i>Prosopis caldenia</i> Burkart, una especie multipropósitos endémica de argentina	225
BV65. Producción de antraquinonas en raíces transformadas de <i>Rubia tinctorum</i> cultivadas en un biorreactor de agitación por onda de un solo uso mediante la combinación de elicitación y remoción <i>in situ</i>	226
BV66. Identificación de las dehidrininas de <i>Chenopodium quinoa</i> y caracterización de su respuesta al estrés salino	228
BV67. Caracterización de promotores tejido-específicos de <i>Sorghum bicolor</i> para su aplicación en la obtención de plantas resistentes a la infección por hongos del género <i>Claviceps</i>	229
BV68. Predicción de metabolitos secundarios en árboles de <i>Eucalyptus</i> mediante modelos de genotipificación y fenotipado de alto rendimiento	230
BV69. Análisis de asociación de todo el genoma en <i>Eucalyptus grandis</i> para la identificación de loci de caracteres complejos: crecimiento, calidad y composición química de la madera	231
BV70. HaHB11, las olas y el viento	233
BV71. Estimación de la variabilidad genética generada en poblaciones mutagenizadas de caña de azúcar	234

BV72. Selección genómica en <i>Eucalyptus dunnii</i> : comparación de predicciones obtenidas empleando una estrategia de Genotipado por secuenciación y el sistema comercial de SNP EuChip60K	235
BV73. Descripción del pardeamiento del fruto en una colección de germoplasma de duraznero y análisis preliminar de su control genético mediante un estudio de asociación de genoma completo	237
BV74. Identificación de genes/QTLs asociados a la resistencia a roya amarilla utilizando mapeo por asociación	238
BV75. GENeTyC: Uniendo biotecnología con el sector agro-productivo	240
BV76. Análisis de la diversidad genética y estructura poblacional en una población de mejoramiento de <i>E. camaldulensis</i> para bioenergía.....	241
BV77. Búsqueda y caracterización de los genes de resistencia (genes R) en girasol.....	243
BV78. Mapeo por asociación a genoma completo para la resistencia a enfermedades fúngicas en girasol.....	244
BV79. Biorremediación de efluentes hospitalarios mediante dos sistemas de humedales construidos.....	246
PREMIOS REDBIO Argentina 2021	247

Programa

Día 1

APERTURA Y EDITORIAL LA BIOTECNOLOGÍA COMO SOLUCIÓN A DESAFÍOS PASADOS, PRESENTES Y FUTUROS

MODERA: MARISA LÓPEZ BILBAO

- Marisa López Bilbao, REDBIO Argentina AC

Apertura del XIII Simposio REDBIO.

- Raquel Lía Chan, IAL CONICET-UNL, FBCB UNL

¿Seguir o no seguir? La paradoja expuesta a través del pasado, presente y futuro de los transgénicos de segunda generación y analizada a través de un desarrollo nacional.

- Dalia M. Lewi, Dirección Nacional de Bioeconomía, MAGyP

Acompañar al Biodesarrollo: propuestas para desafíos pendientes.

MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA

MODERA: MARISA LÓPEZ BILBAO

- María Eugenia Farias, CONICET-CKAPUR SA

Polvo de estrellas, extremófilos y biotecnología: Una historia de transformaciones.

LA BIOTECNOLOGÍA COMO SOLUCIÓN A PROBLEMAS EMERGENTES

MODERA: MARÍA PATRICIA BENAVIDES

- Andres Wigdorovitz, INTA-CONICET-BIOINNOVO

INCUINTA: Aplicación de las plataformas de nanoanticuerpos recombinantes y de Anticuerpos IGY como herramientas para diagnóstico y tratamiento al SARS COV2.

- Adrian Vojnov, ICT Milstein-CONICET

Tecnología de Amplificación Isotérmica (LAMP) para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y en salud humana.

- Marcelo Yanovsky, FIL-CONICET

Desarrollo, caracterización y usos del test COVIDAR IgG, una herramienta de gran utilidad para el manejo de la pandemia.

Día 2**CULTIVO *IN VITRO* Y TRANSFORMACIÓN VEGETAL**

MODERAN: ALEJANDRO ESCANDÓN Y MARISA LÓPEZ BILBAO

- Sergio Ochatt, AgroSup/INRAE/uBPôle GEAPSI, PCMV, Francia

Control del ciclo celular y resistencia a la salinidad y la sequía: “to WEE1 or not to WEE1”.

- Javier Palatnik, IBR

Funciones y aplicaciones del sistema GRF-GIF: de la regulación de células madre a la regeneración de plantas y edición genética de cultivos.

EDICIÓN GÉNICA EN PLANTAS

MODERAN: EZEQUIEL BOSSIO Y LAURA RADONIC

- Paul Chavarriaga-Aguirre, Alianza de Bioersity Internacional & CIAT, Colombia

Edición del gen OsNRAMP5 en la variedad Llanura 11 de arroz para aumentar el número de granos usando CRISPR-Cas9.

- Gabriela Alejandra Massa, INTA-CONICET-FCA UNMdP

Presente y futuro de la edición génica de papa en Argentina.

- Carlos Perez, Bioheuris

El poder de las sinergias para desarrollar una nueva agricultura con CRISPR.

Día 3**BIOTECNOLOGÍA EN ANIMALES Y HUMANOS**

MODERA: MARÍA DE LA PAZ SANTANGELO

- Paulina Boari, Dirección Nacional de Bioeconomía, MAGyP

Xenotrasplante: Un nuevo enfoque biotecnológico para los animales de uso agropecuario.

- Gabriel Vichera, KHEIRON BIOTECH SA

Clonación y Edición Génica en Equinos.

- Rafael Fernández y Martín, CONICET-UBA INPA, FA UBA, NewOrgansBiotech

De la transgénesis a la edición génica en animales de producción.

- Lucia Natalia Moro, FLENI

Modelado y corrección de enfermedades genéticas mediante CRISPR y células madre pluripotentes inducidas.

AVANCES ÓMICOS Y SU FUTURA APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA VEGETAL

MODERAN: MARÍA CAROLINA MARTINEZ Y SEBASTIAN MOSCHEN

- María Teresa Cervera, INIA CIFOR, España

Secuenciación y análisis del genoma de coníferas: estudio de *Pinus pinaster*.

- Carolina Sansaloni, CIMMYT, México

Biodiversidad de trigo: el camino para afrontar la seguridad alimentaria y el cambio climático.

- Hugo Campos, IPC, Perú

Avances ómicos y mejoramiento genético para la seguridad alimentaria en África y Asia.

Día 4

AVANCES ÓMICOS Y SU FUTURA APLICACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA ANIMAL

MODERAN: MARÍA CAROLINA MARTINEZ Y SEBASTIAN MOSCHEN

- Sebastián Demyda-Peyrás, CCT-La Plata-CONICET

Genómica y fertilidad en caballos: De dónde venimos y hacia dónde vamos.

- Ángela Cánovas, University of Guelph, Canadá

Aplicación de tecnologías -ÓMICAS para acelerar la mejora genética animal: casos prácticos.

- Francisco Peñagaricano, University of Wisconsin-Madison, EUA

Ambiente uterino y programación fetal en bovinos: una mirada desde lo ómico.

BIOTECNOLOGÍA Y SU IMPACTO SOCIAL. BIOTECNOLOGÍA VEGETAL, CÓMO LOS PRODUCTOS LLEGAN (¿LLEGAN?) A LA SOCIEDAD. CONVERSATORIO

MODERAN: ALEJANDRO ESCANDÓN Y SANDRA SHARRY

- Patricia Vivian Miranda, INDEAR
- Gabriela Levitus, ARGENBIO
- Fernando Bravo Almonacid, INGEBI-CONICET

Día 5

BIOTECNOLOGÍA INDUSTRIAL

MODERAN: ELEONORA CAMPOS Y PATRICIA MARCONI

- Juana María Navarro Llorens, UCM, España

Desarrollo de tecnologías avanzadas de microalgas para una economía circular.

- Pablo Iván Nikel-Mayer, The Novo Nordisk Fnd-Center for Biosustainability, Dinamarca

Biología sintética bacteriana como estrategia para la producción de xeno-compuestos de alto valor agregado.

- F. Gabriel Acién Fernandez, UAL, España

Microalgae related full chain processes.

BIOTECNOLOGÍA EN ACCIÓN

MODERAN: ELEONORA CAMPOS Y PATRICIA MARCONI

- Valeria Rudoy, UNAHUR

Desarrollo del cultivo *in vitro* de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en la BioFábrica de la Universidad Nacional de Hurlingham, para generar foco productivo en la región y elaboración de alimentos en base a este cultivo con propiedades nutritivas y fitomedicinales (o nutraceuticas).

- Juan Carlos Díaz Ricci, INSIBIO UNT-CONICET

Activación de la respuesta de defensa contra el patógeno *Botrytis cinerea* mediada por un compuesto producido por el patógeno *Colletotrichum acutatum* en frutilla.

BIOECONOMÍA

MODERA: SANDRA SHARRY

- Hugo Chavarría Miranda, IICA, Costa Rica

El potencial de la bioeconomía para la transformación de los sistemas alimentarios de ALC.

- Paloma Moncalean, NEIKER-BRTA, España

Bosques del siglo XXI: hacia una economía circular en el ámbito forestal.

- Amina Sanchez Rodríguez, UTPL, Ecuador

Ecosistema de Biotecnología Industrial del Ecuador: retos y oportunidades para una circularización económica. “La Biotecnología como Solución a Desafíos Pasados, Presentes y Futuros”

Palabras de cierre. Entrega de premios REDBIO

- MARISA LÓPEZ BILBAO, REDBIO Argentina AC



Disertantes



DISERTANTES



Dra. Marisa LÓPEZ BILBAO

REDBIO Argentina Asociación Civil, INTA

Es presidente de REDBIO Argentina AC desde abril 2015 (3 períodos). Involucrada activamente en la difusión y comunicación de la ciencia, ha participado en la organización de todos los Simposios realizados desde el año 2009, así como en numerosos talleres y workshops. Es Lic. en Cs. Biológicas (FCEyN, UBA) con orientación en Biotecnología y Dra. en Cs. Biológicas (UCM, España). Especializada en Biotecnología Vegetal trabajó con diversas especies de interés agronómico (caña de azúcar, trigo, centeno, tabaco, girasol y lechuga) utilizando técnicas de cultivo *in vitro*, transformación genética y, recientemente, edición génica. Desarrolla su tarea de investigación en el Instituto de Biotecnología (CICVyA, INTA) donde dirige su grupo de trabajo, coordina el Sector Cultivo de Tejidos Vegetales y es responsable de los Invernáculos de Bioseguridad.



Dra. Raquel Lía Chan

Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL) www.ial.conicet.gov.ar (ARGENTINA)

Es Investigadora Superior de CONICET, Profesora Titular en la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas de la UNL y directora del Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL). Ha publicado en coautoría 93 trabajos en revistas indizadas en el SCI, 12 capítulos de libros y muchos artículos de divulgación científica. Dirigió 14 Tesis de Doctorado y 13 de Licenciatura en Biotecnología; varias de ellas premiadas. Fue incorporada a la Academia Nacional de Ciencias (2020) y a la Academia de Ciencias Médicas de la Provincia de Santa Fe (2020). Los premios que ha recibido la Dra. Chan por sus trabajos de investigación son muchísimos, entre ellos podemos mencionar el premio Female Food Hero (Crop Life International), Premio Testimonios Clarín Rural Desarrollo en Investigación en Agricultura, Reconocimiento de AAPRESID por la contribución a la agricultura, una nominación como una de las diez mujeres que lideran la Ciencia en América Latina (2013) por la BBC de Londres Red Inter-Americana de Academias de Ciencias (IANAS, por sus siglas en inglés), la Unesco y la ONU así como la medalla REDBIO que le fue otorgada en 2019.

**Dra. Dalia M. Lewi**

Dirección Nacional de Bioeconomía MAGYP- Biotecnología Agropecuaria
Argentina dlewi@magyp.gob.ar

Es Ingeniera Agrónoma con orientación Fitotecnia y Doctora en Ciencias Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA. Actualmente se desempeña como Directora Nacional de Bioeconomía en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación. Anteriormente lideró el Grupo de Transformación Genética Vegetal en el Instituto de Genética del Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias de INTA, trabajando en temas de Biotecnología Vegetal y Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. Representó al INTA en la CONABIA (Comisión Nacional Asesora en Biotecnología Agropecuaria) durante 12 años. Es docente de Bioseguridad y Evaluación de riesgo de OGM en la carrera de Ingeniería en Agrobiotecnología de la UNSAM.

Microbiología y biotecnología



Dra. Maria Eugenia Farias

CONICET – CKAPUR S.A. (ARGENTINA)

Es Investigadora Principal de CONICET con especialidad en Microbiología ambiental en salares, lagunas y volcanes de la Puna. Publicó 110 artículos científicos (*h-index* scopus 27). Gestiona distintos proyectos aplicados a medio ambiente en salares, diagnóstico ambiental en zonas de influencia de minería no metalífera, desarrollos biotecnológicos aplicados al medio ambiente, extensión en comunidades originarias de la Puna de Argentina y Chile y desarrollo de bioinoculantes extremófilos para el agro. Cofounder START UP CKAPUR. Desarrollo de proyectos biotecnológicos basados en microorganismos extremófilos. Bioprospección de enzimas CRISPR-CAS para aplicación en kits de detección virus. (U.S. *Patent Application* No: 62/865.884). Ha recibido una 1ra Mención Premio L'OREAL por la Mujer en la Ciencia y el Premio Konex Ciencia y Tecnología, Biología y Ecología.

La Biotecnología como solución a problemas emergentes



Dr. Andrés Wigdorovitz

INTA – CONICET – BIOINNOVO www.bioinnovo.com.ar (ARGENTINA)

Doctor de la Universidad de Buenos Aires (1996) e Investigador Principal del CONICET. Fue coordinador del Área de Vacunas del Instituto de Virología, INTA Castelar (2003-2014) y referente en innovación tecnológica (2015 a la actualidad). Es fundador de INCUINTA: la plataforma técnico-organizacional para el desarrollo de proyectos tecnológicos. Fundador y Director Científico de Bioinnovo S.A., empresa público-privada de base tecnológica creada por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y Vetanco SA. Es autor en 63 publicaciones en revistas indexadas internacionales. Autor en 7 patentes nacionales e internacionales. Referente internacional en *Molecular Farming* (producción de vacunas y anticuerpos en plantas). Más de 20 convenios de conexión tecnológica con empresas nacionales e internacionales. Posee 3 productos en el mercado: Bioinnovo IGY DNT: primer biológico basado en la tecnología IgY para la prevención y tratamiento de la diarrea neonatal de cuevas. VEDEVAX: Primera vacuna recombinante a sub-VDVB (Virus de la Diarrea Viral Bovina). Rp26 IDGA INCUINTA AIE: primer kit nacional recombinante para Anemia Infecciosa Equina. El Dr. Wigdorovitz ha recibido 13 premios nacionales e internacionales en los últimos 5 años. Entre los que podemos nombrar: 4 premios INNOVAR, 3 premios Instituto Balseiro, Premio MOTIVAR, Premio PROSUR, Premio CITA, 2 Medallas de oro OMPI WIPO, Medalla de plata en la categoría Medicina, Exposición Internacional de Invenciones organizada por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI).



Dr. Adrián Vojnov

Instituto de Ciencia y Tecnología “Dr. Cesar Milstein”-CONICET (ARGENTINA)
Egresado de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales -Universidad de Buenos Aires (UBA). 1989. Dr. De la UBA 1996. Doctorado realizado en la Fundación Campomar (hoy Fundación Instituto Leloir). Realizó su postdoctorado en *The Sainsbury Laboratory*, Norwich-Reino Unido. (1997-2001). Es Investigador del CONICET desde el año 2005. En la actualidad es Investigador Principal del CONICET y Director del Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein-CONICET. Ha recibido numerosos premios: Premio Investigación Aplicada INNOVAR. Premio Investigación Aplicada INNOVAR 2013 y Gran premio INNOVAR 2013. Reconocimiento al equipo de investigación del ICT Milstein, de la Fundación Cassará. 2020. La Honorable Cámara de Diputados de la Nación. Sus líneas de trabajo actuales incluyen: Microbiología molecular, interacción planta-patógeno, Desarrollo de kits de diagnósticos por amplificación isotérmica para la detección del agente causal de la enfermedad HLB en los cítricos, Chagas, Dengue y Coronavirus COVID-19.

**Dr. Marcelo Javier Yanovsky**

Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires (Fundación Instituto Leloir-CONICET) (ARGENTINA)

Es Investigador Principal de CONICET. Su grupo de trabajo se focaliza en dilucidar como se codifican, regulan y ejecutan los programas genéticos que permiten a cada ser vivo funcionar, crecer, desarrollarse y multiplicarse en forma armónica con un entorno que varía periódicamente. Además, se interesa en aplicar el conocimiento adquirido al desarrollo de herramientas productivas o diagnósticas en el ámbito agronómico, veterinario o biomédico. Ha publicado trabajos en áreas variadas, desde Genómica Vegetal, a Biomedicina. Los premios que ha recibido son el *Guggenheim Fellow Plant Biology* en 2011, HHMI Scholar 2007-2011, Fundación Bunge y Born, Investigador Joven, Biología de Plantas en 2006 y el Bernardo Houssay como Investigador Joven en Cs. Biomédicas en 2005.

Cultivo *in vitro* y Transformación vegetal



Dr. Sergio Ochatt

Agroécologie, AgroSup/INRAE/uBPôle GEAPSI, Laboratoire de Physiologie Cellulaire, Morphogenèse et Validation (FRANCIA)

El grupo del Dr. Ochatt trabaja en biotecnología aplicada al mejoramiento genético de numerosas especies, últimamente en leguminosas y especies modelo. Produjo el primer ejemplo de regeneración de un frutal de clima templado a partir de protoplastos; demostración del rol de la electricidad sobre la síntesis del ADN; elucidación de la competencia a la regeneración a partir de células y tejidos indiferenciados; mecanismo de adquisición de resistencia a estrés abiótico. ORS Award (*Committee of Chancellors and Vice-Chancellors of the Universities of the UK*).

**Dr. Javier Palatnik**

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR) palatnik@ibr-conicet.gov.ar (ARGENTINA)

Licenciado en Biotecnología, Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad Nacional de Rosario (UNR). Ha realizado posdoctorados en el *Salk Institute for Biological Studies*, Estados Unidos y en el *Max Planck Institute for Developmental Biology*, Alemania. Es Investigador Principal de CONICET. Su grupo de trabajo se focaliza en diferentes líneas de investigación relacionadas con la biogénesis y mecanismos de acción de ARN pequeños en plantas, biología de los microARNs, control del crecimiento y desarrollo de plantas por redes de factores de transcripción y microARNs, control de la proliferación, células madre, y reprogramación celular. Ha recibido los premios *HHMI International Scholar*, *HFSP Career Development Award* y Premio Houssay.

Edición génica en plantas



Dr. Paul Chavarriaga-Aguirre

Alianza de Bioversity Internacional & Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) p.chavarriaga@cgiar.org <http://www.ciat.cgiar.org/> (COLOMBIA)

Es biólogo especialista en edición de genomas. Líder de la Plataforma de Edición de Genomas del CIAT para Cultivos Tropicales.

**Dra. Gabriela Alejandra Massa**

INTA/CONICET/FCA-UNMdP (ARGENTINA)

Es doctora en Ciencias Básicas y Aplicadas en la UNQ, 2010. Participó en el consorcio de Secuenciación del Genoma de la Papa. Es pionera en la Edición Génica en papa en Argentina. Ha realizado dos pasantías postdoctorales cortas, en el Laboratorio del Dr. Daniel Voytas en la Universidad de Minnesota (2012) y en el Laboratorio del Dr. David Douches en la Universidad Estatal de Michigan (2018). También participa en proyectos que estudian la variabilidad alélica en genes de interés agroindustrial de la papa andina.

**Dr. Carlos Perez**

Bioheuris <https://www.bioheuris.com/> (ARGENTINA)

Socio Fundador y Director de Estrategia de Bioheuris. En donde integran la biología sintética y la edición genómica para desarrollar sistemas sustentables de manejo de malezas. Su formación profesional es en el área de la bioquímica, con un doctorado en el área de la microbiología y posdoctorado en el ICGEB (*International Center of Genetic Engineering and Biotechnology*, Italia). Su carrera profesional continuó como Gerente de proyectos Biotecnológicos en Bioceres e INDEAR, para luego desempeñarse como *Stewardship Regional Manager* (LATAM) en Bayer Crop Science.

Biotecnología en animales y salud humana



Lic. Paulina Boari

Dirección Nacional de Bioeconomía – MAGYP pboari@magyp.gob.ar
(ARGENTINA)

Desde el año 2007, se desempeña como Evaluadora Científico Técnica en el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca, dentro de la Coordinación de Innovación y Biotecnología, asistiendo a los integrantes de CONABIA en la evaluación de solicitudes de OGM para uso confinado (ensayos) y/o liberación ambiental. Actualmente forma parte del equipo del Área de Animales GM.

**Dr. Rafael Fernandez y Martin**

CONICET-UBA (INPA), FA-UBA, NewOrgansBiotech @neworgans
(ARGENTINA)

En su doctorado y en sus primeras estadías postdoctorales trabajó en biología molecular de hongos filamentosos, en la síntesis de terpenoides y purinas, desarrollando métodos de transformación y estudios de cromatina. Desde el 2005 trabaja en animales de producción, fundamentalmente en optimización de métodos de transgénesis y, desde la aparición de los sistemas CRISPR-CAS, en edición génica.



Dr. Gabriel Vichera

KHEIRON BIOTECH S.A <http://www.kheiron-biotech.com/> (ARGENTINA)

Co-fundador y Director Científico de la empresa KHEIRON BIOTECH S.A, la cual se dedica a la producción comercial de clones equinos y a la utilización de técnicas de edición génica para el mejoramiento genético animal. En el año 2013 lograron el nacimiento del primer clon de caballo de polo viable de Latinoamérica y más de 200 clones contabilizados hasta el día de hoy. Además, es Co-fundador de TAURÓN S.A, empresa dedicada a la producción *in vitro* de embriones bovinos y PROINVET S.A, empresa dedicada a la producción de nuevos fármacos de uso veterinario. Ha recibido el Premio estímulo a investigadores jóvenes “Dr. Eduardo Lombardi” otorgado por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva en el 2011; el premio “*Student Research Competition*” de la *International Embryo Transfer Society* (IETS) en el 2010, una Mención Especial en Investigación Aplicada de la Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva del Ministerio de Educación -INNOVAR 2010, Premio al Mejor Trabajo en Investigación Básica otorgado por la Sociedad Argentina de Andrología en el 2007, Premio Accésit – Investigación Básica otorgado por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva en el 2007.

**Dra. Lucia Natalia Moro**

FLENI (ARGENTINA)

Es Lic. en Biotecnología de la UNQ y Dra. de la UBA. Ingresó a carrera de investigador científico de CONICET en 2018 y trabaja en el modelado de enfermedades hereditarias mediante la utilización de células pluripotentes inducidas y edición génica por CRISPR. Hasta la fecha han generado mutaciones puntuales reportadas en cardiopatías hereditarias y también han reprogramado células de 4 pacientes para generar células pluripotentes, en vistas de terapias personalizadas.

Avances ÓMICOS y su futura aplicación en biotecnología vegetal



Dra. María Teresa Cervera

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) – Centro de Investigación Forestal (CIFOR)
http://wwwsp.inia.es/Investigacion/centros/CIFOR/departamentos/ecofor/persona_lgenetica/Paginas/default.aspx (ESPAÑA)

La investigación de la Dra. Cervera se ha centrado, principalmente, en el estudio de la respuesta adaptativa de las especies leñosas a estreses bióticos y abióticos. Es co-coordinadora de la iniciativa de secuenciación y análisis del genoma de *Pinus pinaster* y colabora activamente con empresas y administraciones públicas. Forma parte del equipo del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) que apoya la implementación de las regulaciones FLEGT y EUTR para la trazabilidad de especies forestales comerciales.

**Dra. Carolina Sansaloni**

CIMMYT – Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo www.cimmyt.org (MÉXICO)

Licenciada en Genética, egresada de la Universidad Nacional de Misiones. Realizó su maestría y doctorado en la Universidad de Brasilia y EMBRAPA Cenargen en Brasilia, Brasil. Al finalizar sus estudios se incorporó al programa de recursos genéticos del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT-México) en el 2011. Es líder del Servicio de Análisis Genético para la Agricultura (SAGA), una plataforma de genotipado de alto rendimiento. Participa en diversos proyectos utilizando datos genómicos enfocados a diversidad de trigo, resistencia a las enfermedades, calidad, genómica funcional y bioinformática. Ha recibido el premio internacional *International Wheat Genome Sequencing Consortium- IWGSC Early Career Award* 2019.



Dr. Hugo Campos

International Potato Center (PERÚ)

Ingeniero Agrónomo, Universidad Austral de Chile, realizó su doctorado en el *John Innes Centre*, Reino Unido y MBA con foco en innovación en la Universidad del Desarrollo, Chile. Actualmente es Director de Investigación en el International Potato Center (PERÚ), con más de 20 años de experiencia liderando esfuerzos de mejoramiento genético y biotecnología en el sector privado y CGIAR, el Dr. Campos ha contribuido al desarrollo comercial de variedades y productos biotecnológicos en maíz, soja, caña de azúcar, y batata en EUA, África y Latinoamérica. Los libros que ha publicado suman más de 240.000 copias vendidas o bajadas de internet. Este año es miembro del *External Advisory Panel* del *Norwich Institute for Sustainable Development* (Reino Unido).

Avances ÓMICOS y su futura aplicación en biotecnología animal



Dr. Sebastián Demyda-Peyrás

Investigador Independiente – CCT – La Plata – CONICET (ARGENTINA)

Doctorado por la Universidad de Córdoba, España, volvió repatriado al CONICET en el año 2016. Su laboratorio centra sus estudios en la genómica animal avanzada, con énfasis en la reproducción de la especie equina (principalmente) y bovina. Actualmente participa del desarrollo de programas de cría y mejoramiento y de investigación genética de varias razas equinas en Argentina y España. Adicionalmente desarrolla metodologías para la detección de cromosomopatías en la especie equina mediante genotipado molecular. Su laboratorio cuenta actualmente con 5 becarias doctorales que trabajan en análisis genómicos y reproductivos en bovinos, equinos y caprinos. Profesor invitado Master en Agroalimentación Universidad de Sevilla, España.

**Dr. Francisco Peñagaricano**

University of Wisconsin-Madison <http://fpenagaricano-lab.org> (EUA)

El grupo del Dr. Peñagaricano está interesado en genómica cuantitativa y biología computacional. Se enfoca en el desarrollo y aplicación de métodos para diseccionar la arquitectura genética de rasgos económicamente relevantes en el ganado. Sus investigaciones incluyen desde mapeo de genes, análisis de conjuntos de genes, predicción genómica, análisis de metilomas y transcriptomas hasta integración de datos multiómicos y modelado de redes.



Dra. Angela Cánovas

University of Guelph <https://animalbiosciences.uoguelph.ca/abscpeople/acanovas>
(CANADÁ)

Su programa de investigación actual se centra en el campo de la biología de sistemas en animales combinando nuevas tecnologías ÓMICAS, genómica estadística y bioinformática asociadas a caracteres económicamente importantes en especies de ganado. Ha publicado más de 90 manuscritos revisados por pares, más de 300 artículos/actas de conferencias y más de 45 charlas invitadas en conferencias internacionales. La Dra. Cánovas dirige varios proyectos de investigación de agencias de subvenciones federales, provinciales e industriales con presupuestos que superan los U\$S 8 millones (fondos recibidos como Investigadora Principal) y supervisa un equipo de más de 18 estudiantes graduados e investigadores. Desde 2015, la Dra. Cánovas es miembro de varias juntas de la industria, como el *Canadian Beef Breeds Council* y *AgSights*, y lidera varios comités internacionales. Es editora asociada de cuatro revistas científicas y, ha establecido colaboraciones productivas con investigadores e industrias en Australia, Brasil, Canadá, China, Honduras, Italia, Irlanda, Nueva Zelanda, España y Estados Unidos. El año pasado ha recibido dos premios por sus logros en investigación el *University of Guelph Research Excellence Award* y el *American Society of Animal Science (ASAS) "Early Career Achievement Award"*.

Biotecnología y su impacto social. Biotecnología vegetal, cómo los productos llegan (¿llegan?) a la sociedad. Conversatorio.



Dra. Patricia Vivian Miranda

Instituto de Agrobiotecnología Rosario (ARGENTINA)

Es Investigadora Independiente CONICET y se especializa en la aprobación de productos biotecnológicos. Tiene amplio conocimiento en el área de bioquímica de proteínas, así como en Molecular Farming. Actualmente es Gerente de Asuntos Regulatorios en el INDEAR.

**Dra. Gabriela Levitus**

ARGENBIO

www.argenbio.orgwww.infoalimentos.org.arwww.porquebiotecnologia.com.ar (ARGENTINA)

Es investigadora y docente en el área de biología molecular y biotecnología. Como directora de ArgenBio, escribió libros, capítulos de libros, artículos de divulgación y desarrolló *websites* y materiales para la difusión y la comprensión de la biotecnología. Es miembro de la CONABIA, miembro honorario de ILSI Argentina y miembro fundador de Infoalimentos, el Consejo para la Información sobre la Seguridad de los Alimentos y Nutrición.



Dr. Fernando Bravo-Almonacid

Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor N. Torres” (INGEBI-CONICET) <http://ingebi-conicet.gov.ar/> (ARGENTINA)
Es Investigador Principal del CONICET y docente en la UNQ. Su laboratorio se focaliza en la utilización plantas transgénicas nucleares, vectores virales y plantas transplastómicas para la producción de proteínas de interés farmacológico. Además, desarrollan plantas transgénicas de tabaco y papa con el fin de lograr resistencias a enfermedades virales, bacterianas y fúngicas. Ha recibido los premios “Perez Compans” 2004 otorgado por la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria por el trabajo: “Desarrollo de un vector para la transformación de plástidos.” y Premio “DuPont-CONICET 2008” Segunda Mención, en el marco del Programa de Apoyo al Desarrollo Científico: nuevo desarrollo en Biotecnología” por el trabajo: “Desarrollo de una nueva plataforma de producción de antígenos en plantas transplastómicas.

Biotecnología industrial



Dra. Juana María Navarro Llorens

Universidad Complutense de Madrid <https://ingenieriametabolica.wixsite.com/grupodeinvestigacion> <https://www.instagram.com/renuwalcyted/> (ESPAÑA)

Profesora adjunta del Departamento de Bioquímica y Biología de la Universidad Complutense de Madrid en España. Su interés profesional radica principalmente en el campo de la Genética Bacteriana y la Biotecnología. Su grupo de investigación está dedicado al desarrollo y aplicación de herramientas de edición genómica tales como: CRISPR-Cas, mutagénesis dirigida, promotores, vectores integrativos y de expresión, entre otros. El fin principal es el uso biotecnológico de cianobacterias y actinobacterias. Desde principios de 2020 coordina el *Iberoamerican Cytod Network Renuwal*.



Dr. F. Gabriel Acien Fernandez

Universidad de Almería (ESPAÑA)

Graduado por la Universidad de Granada en 1992, obtuvo el doctorado en la Universidad de Almería en 1996. Fue profesor titular en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Almería hasta 2012. En donde fue habilitado como catedrático en el mismo departamento. Participa como profesor en estudios de Máster en las Universidades de Sevilla, Málaga y en la Universidad Internacional de Andalucía. Es miembro de la *International Society for Applied Phycology* y de la *Latino American Society for Algal and Environmental Biotechnology*. Es editor de las revistas *Algal Research* y *RELABAA*. Además, de ser revisor de varias revistas internacionales. Colabora con proyectos internacionales como *Desert Bioenergy* en Chile y el CONACYT en México destinados a desarrollar procesos para la producción de biocombustibles a partir de microalgas en lugares especiales. Actualmente, coordina un proyecto europeo dentro del programa H2020 modalidad *Innovation Action* por importe de €10.5 M, dentro del programa *Blue Growth*.



Dr. Pablo Iván Nikel-Mayer

The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability (NNF-CFB) <https://scholar.google.com/citations?user=flmgvwwAAAAJ&hl=en> (DINAMA RCA)

El objetivo principal del grupo de Microbiología Ambiental de Sistemas, que estableció en 2017 en el NNF-CFB, es diseñar bacterias ambientales para la biosíntesis de compuestos nuevos para la naturaleza que hasta ahora no se podían producir biológicamente. El interés central del equipo es implementar el metabolismo sintético para mezclar flúor en fábricas de células, satisfaciendo la necesidad industrial de procesos innovadores hacia la producción de organofluorados a través de biocatálisis de células enteras. Desde una perspectiva más amplia, nuestros esfuerzos amplían los límites de la bioquímica natural para incorporar elementos químicos no biológicos. Es miembro electo de F1000, Presidente de *the Applied Synthetic Biology in Europe V Conference* (2020) y la *International Pseudomonas Conference* (2023).

Biotecnología en acción



Lic. Valeria Rudoy

Universidad Nacional de Hurlingham (ARGENTINA)

Licenciada en Ciencias Biológicas FCEyN U.B.A 1991, Dedicada a la Biotecnología vegetal aplicada desde 1993. Estuvo a cargo del laboratorio de Producción Vegetal de TecnoPlant – Bio Sidus hasta mayo de 2017. Especialista en micropropagación masiva de plantas, desarrollo de técnicas de caracterización varietal por técnicas de biología molecular y transformación genética de plantas. Gestión con bancos internacionales repositorios de variedades de arándanos. Ha participado en la aprobación de papa GM resistente a virus PVY ante CONABIA. Fue becada por Confederación Suiza postgrado en el laboratorio de Biología Molecular Vegetal Instituto de Botánica de la Facultad de Ciencias Universidad Neuchâtel Suiza. En 2015 ha recibido el “Diploma a la Innovación biotecnológica nacional: Papa TIC-AR233-5 RESISTENTE A VIRUS PVY”. MINISTERIO DE AGRICULTURA, GANADERÍA Y PESCA – PRESIDENCIA DE LA NACION, otorgado por la Presidenta de la Nación.

**Dr. Juan Carlos Díaz Ricci**

Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (UNT-CONICET) (ARGENTINA)

Desde hace más de 20 años investiga los mecanismos involucrados en la respuesta de defensa en plantas a patógenos. La mayor parte del trabajo se realizó utilizando como modelo de estudio a la frutilla (*Fragaria x ananassa*). El trabajo se orienta al desarrollo de tecnologías que contribuyan a la sustitución de los agroquímicos actualmente en uso por productos biodegradables y respetuosos del medio ambiente.

Bioeconomía



Hugo Chavarría Miranda

Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)
@hugochavarria <https://iica.int/es/bioeconomia> (COSTA RICA)

Gerente del Programa Hemisférico de Bioeconomía y Desarrollo Productivo del IICA donde lidera proyectos en materia de: 1) sensibilización y formación de capacidades, 2) construcción de políticas, estrategias y normativas en bioeconomía y sus senderos; y 3) promoción de la bioeconomía en las cadenas de valor del agro y los territorios rurales. Ha sido autor o coautor de más de 30 documentos publicados y ha sido docente en diversos programas de capacitación en América Latina y el Caribe (ALC). Previo a su entrada al IICA había sido consultor para diversos organismos internacionales como la Unión Europea, el CIDH, entre otros.

**Paloma Moncalean**

NEIKER-BRTA (ESPAÑA)

Dirige el laboratorio de cultivo de tejidos en NEIKER centrándose en la embriogénesis somática de coníferas. Ha publicado más de 50 artículos peer-review, difundido su trabajo en muchísimos congresos internacionales y es evaluadora de la Agencia estatal de investigación del Gobierno de España. Ha dirigido numerosas tesis doctorales y su trayectoria profesional la llevó a ser designada coordinadora adjunta de la Unidad IUFRO 2.09.02 sobre embriogénesis somática y otras tecnologías de propagación vegetativa.

**Dr. Aminael Sánchez Rodríguez**

@aminaelsanchez <http://www.silico-chem.com> Universidad Técnica Particular de Loja (ECUADOR)

PhD en Biología Computacional, con énfasis en Inteligencia Artificial y Data Mining por la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica (2013). Actualmente se desempeña como docente investigador en el Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Técnica Particular de Loja. Aminael posee una vasta trayectoria investigativa plasmada en más de 50 artículos Q1 indexados en SCOPUS, uno de los portales científicos más reconocidos del mundo. Premio a la Excelencia Científica otorgado por la Academia de Ciencias de Cuba en 2015. Premio Innovator Under 35 otorgado por el MIT a su empresa SilicoChem en 2019.



Resúmenes de disertaciones



Resúmenes de disertaciones

Apertura del XIII Simposio REDBIO2021

Marisa Lopez Bilbao, Sandra Sharry, Eleonora Campos, Alejandro Escandón, Patricia Marconi, Patricia Benavides, Laura Radonic, Ezequiel Bossio, María Carolina Martinez, Pamela Villalba

REDBIO Argentina Asociación Civil

Desde que REDBIO Argentina Asociación Civil obtuvo su personería jurídica en el año 2007, comenzó a organizar sus Simposios, algunos nacionales y otros internacionales, con periodicidad todos los años impares.

Este REDBIO 2021 fue el de mayor desafío. En abril 2020, bajo el shock de la pandemia y cuarentena, cuando pensábamos que iban a ser solo un par de meses, en la Comisión Directiva comenzamos a organizar el Simposio REDBIO 2021. Y aunque confiábamos que la presencialidad estaría completamente restaurada en junio 2021, decidimos avanzar en organizar un encuentro virtual. Nos parecía importante capitalizar lo aprendido y sobre todo tomar las enormes ventajas de conectar gente aislada y de acortar las distancias, especialmente teniendo en cuenta las dimensiones de Argentina. De esta manera, el Simposio se realizaría por primera vez en “la nube”.

Pero fundamentalmente, pudimos ver que la biotecnología pasó a ser parte de la vida cotidiana. La gente escucha, lee, opina e incorpora a su vocabulario, palabras o frases como kit de detección, análisis de PCR, desarrollo de vacunas, ensayos en Fase 3, inocuidad o bioseguridad. Pudimos ver cómo compañeros de ruta, investigadores de nuestro país, aparecieron en los medios, mostrando la capacidad instalada de desarrollar kits o detectar qué cepa del virus es la que circula en nuestra población.

Todo esto nos llevó a decidir el lema de nuestro Simposio 2021: “La Biotecnología como Solución a Desafíos Pasados, Presentes y Futuros”.

Comenzaremos el Simposio con la disertación del último premio REDBIO Internacional, que por cuarta vez galardona la ciencia argentina, en la persona de Raquel Chan, quien nos llevará de la investigación básica en plantas a la aplicación biotecnológica. A lo largo de las cinco jornadas se hablará de

Biodesarrollos y Bioeconomía, Biotecnología y Mejoramiento Vegetal y Animal, Biotecnología Industrial y Microbiología y en un conversatorio abordaremos la Comunicación. Por último, pero no menos importante, tendremos como siempre la valiosísima sesión de Posters, donde los mejores trabajos serán expuestos por sus autores de manera oral.

Esperamos que todo el esfuerzo dedicado en la organización, como así también la contribución de los disertantes, sumando el aporte de la ciencia joven que difundirá en posters u oralmente sus trabajos o líneas de investigación, sean de utilidad para seguir haciendo crecer nuestra red de biotecnología, la REDBIO.

¿Seguir o no seguir? La paradoja expuesta a través del pasado, presente y futuro de los transgénicos de segunda generación; el análisis a través de un desarrollo nacional.

Chan, Raquel

Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL-FBCB). Colectora Ruta Nacional 168 km 0 – Predio CONICET Santa Fe – Santa Fe – Argentina

La demanda de alimento y energía ha crecido en forma concomitante con el aumento de la población mundial y se prevé que la tendencia continuará gracias al aumento de la esperanza de vida. La producción de estos bienes está afectada por distintos factores, entre los cuales se destacan los climáticos y de origen no biológico que generan pérdidas en los rindes que van desde el 8 % al 43 % anual. Los mejoradores tradicionales han hecho esfuerzos enormes y exitosos desde los inicios de la agricultura para compensar estas enormes pérdidas y luego se sumaron biotecnólogos y biólogos moleculares, aportando más progresos. Por último, las técnicas de transgénesis y edición génica han marcado un nuevo hito en la historia de la agricultura. Sin embargo, el problema de pérdidas por causas ambientales persiste y, notoriamente, los cultivos con tolerancia a estrés abiótico no están disponibles en el mercado aún. Los motivos para esta ausencia son variados e incluyen como central la mala percepción pública de los OVGM (Organismos Vegetales Genéticamente Modificados). Sin embargo, este no es el único motivo; se suma uno no menos importante y es que el potencial negocio, ya

que el desarrollo de estas tecnologías requiere de una inversión considerable, no es universal como lo es el que generó la primera generación de OVGm con resistencia a herbicidas y/o a insectos. A través del desarrollo nacional de soja y trigo HaHB4, se puede visualizar el camino recorrido para llevar un descubrimiento de la ciencia fundamental hasta un cultivo de interés agronómico y comprender por qué a pesar de que existen soluciones a los problemas planteados, éstas son difíciles de implementar. Los cultivos de trigo y soja que expresan el gen de girasol HaHB4 han presentado mejoras considerables en rendimiento en muy variadas regiones del país con distintas calidades de suelos, climas y regímenes pluviales. El trabajo interdisciplinario ha enriquecido el conocimiento y contribuido para delinear no sólo las regiones adecuadas para implementar estas tecnologías sino también sus formas de evaluación. Se discutirán estos aspectos de la problemática, así como las perspectivas futuras para éstos y otros desarrollos nacionales.

Acompañar al Biodesarrollo: propuestas para desafíos pendientes

Lewi, Dalia

Dirección Nacional de Bioeconomía, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. dlewi@magyp.gob.ar

Biotecnología, Bioenergía, Bioinsumos y Biomateriales, además de ser un listado de aproximaciones al desarrollo de productos y procesos que comparten el concepto de la utilización de la biomasa y de la aplicación de las tecnologías para su transformación derivando en innovaciones, constituyen el conjunto de áreas que integran actualmente la Dirección Nacional de Bioeconomía, de la Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional del MAGYP. El concepto Biodesarrollo considera la existencia de las innovaciones derivadas de las áreas mencionadas, pero a su vez trae implícito un objetivo –el desarrollo- y los procesos a través de los cuales deben transitar las mismas. En congresos anteriores de REDBIO se habló y discutió - y posiblemente en éste también suceda- sobre las dificultades que tienen los desarrollos locales para atravesar con éxito el camino regulatorio y de registro. En esta gestión desde el MAGYP nos propusimos

acompañar a las y los desarrolladores locales. En la presentación se mostrará cómo.

Polvo de estrellas, extremófilos y biotecnología: una historia de transformaciones

Farias, Maria Eugenia

CRO CKAPUR - CIC Principal CONICET mefarias2009@gmail.com

“Somos polvo de estrellas reflexionando sobre estrellas” Esta icónica frase pronunciada por Carl Sagan no es una expresión meramente poética, científicamente sabemos, que estamos hechos de los desechos de estrellas antiguas que murieron en el pasado remoto del universo y que estos elementos son reciclados en nuestro planeta, desde el inicio de la vida, en ciclos biogeoquímicos donde los microbios son los principales protagonistas.

La Puna por sus condiciones extremas es un ambiente donde se recrean las condiciones de la tierra primitiva. En el año 2009 descubrimos en la Puna ecosistemas arcaicos (estromatolitos) formados por extremófilos que siguen llevando a cabo ciclos biogeoquímicos en forma ancestral. Llevamos 12 años relevando toda la Puna de Argentina Chile y Bolivia donde reportamos este tipo de ecosistemas para la ciencia en 30 ambientes que incluyen volcanes salares y lagunas. Hicimos ciencia básica publicamos muchísimos papers (más de 110 en los últimos 12 años) y la principal conclusión de todo este trabajo es que los ciclos biogeoquímicos ancestrales que usó Luca (Last Unique Common Ancestor) hace millones de años, siguen funcionando en estos ecosistemas. Hacíamos ciencia básica para preservar estudiar y poner en valor estos ecosistemas. Hasta que en el año 2020 llegó la pandemia y todo se transformó y entonces nos transformamos nosotros, con el conocimiento adquirido de 20 años estudiando salares, interpretando la vida al extremo cambiamos la pregunta de ¿CÓMO HACEN PARA SOBREVIVIR LOS EXTREMÓFILOS EN LOS SALARES? a ¿QUÉ PODEMOS APLICAR DEL CONOCIMIENTO QUE TENEMOS DE CÓMO SOBREVIVEN? Así nos transformamos en biotecnólogos y, en medio de la pandemia, pudimos usar ese conocimiento básico para generar dos historias de

aplicaciones biotecnológicas: en dos Start Ups financiadas por la incubadora GRID X <https://gridexponential.com> :

1- CASPR-BIOTECH <https://caspr.bio> desarrolla kits de diagnósticos que se aplica a COVID19, Hanta virus y Dengue y está basada en nuevos sistemas CRISPR-Cas que descubrimos en los salares de la Puna y patentamos en USA.

2- Fundamos CKAPUR <https://Ckapur.com> una empresa que desarrolla biotecnología sustentable aplicada al agro basada en microorganismos extremófilos: "recicladores ancestrales de polvo de estrellas" aislados de los salares.

Mi presentación se trata estas historias y cómo, al igual que los elementos que pasan los ciclos biogeoquímicos transformándose de inorgánicos a orgánicos, nos transformamos de científicos de las ciencias básicas a las ciencias aplicadas.

INCUINTA: Aplicación de las plataformas de nanoanticuerpos recombinantes y de Anticuerpos IGY como herramientas para diagnóstico y tratamiento al SARS COV2

Wigdorovitz, Andrés

INTA - CONICET - BIOINNOVO

En INCUINTA venimos trabajando con la plataforma de nanoanticuerpos recombinantes surgidos de las llamas ("nanobodies"), y de las inmunoglobulinas (IgY) generadas a partir de yema de huevo de gallinas como tecnologías preventivas y terapéuticas,

Durante la presentación se mostrarán los resultados obtenidos en el marco del proyecto COVID 19 IP 406 del MINCYT

En relación a la producción de nanoanticuerpos se presentará el proceso completo de la generación de la librería y de la obtención y caracterización de los nanoanticuerpos obtenidos

Brevemente, el proceso inicia inmunizando a la llama, en este caso con la proteína spike del coronavirus, que es la que induce los anticuerpos neutralizantes. A la llama se le saca sangre y se va generando una biblioteca con secuencias de anticuerpos contra ese antígeno. En este caso el trabajo se realizó junto con el equipo liderado por la referente Itatí Ibáñez (CONICET), INCUINTA. Como

resultado de un arduo trabajo hoy contamos con 51 nanoanticuerpos de los cuales 5 han sido seleccionados por su afinidad y capacidad neutralizante para ser utilizados como tratamiento en un aerosol nasal. Se ha firmado una carta acuerdo entre CONICET/ INTA y una empresa farmacéutica y ya estamos produciendo el primer lote a escala para iniciar las fases de registro.

En relación a la producción de IgY anti COVID 19 se mostrarán los resultados desarrollados junto a la empresa BIOINNOVO SA (empresa formada entre el INTA y Vetanco SA) que aportó su infraestructura y conocimiento en el escalado de anticuerpos IgY,

Las IGY son anticuerpos que se forman como respuesta a la inoculación en gallinas de antígenos seleccionados, que pueden ser bacterias, virus, parásitos o proteínas.

Para el desarrollo de IgY anti COVID se trabajó con el Consorcio COVID19 de la Facultad de Ciencias Exactas (UBA), quienes nos proveyeron de la proteína RBD para formular la vacuna con las que se realizó la inmunización de las gallinas. Los lotes producidos fueron evaluados en el Instituto Malbrán, en el Instituto de Virología del CICVyA (INTA) y la Universidad de Virginia Tech (EEUU), obteniéndose títulos neutralizantes que superan en más de 10 veces los de un paciente convaleciente de COVID. En este caso la idea es que las IgY se utilicen en formato de una píldora blanda -vía oral- para proteger el tracto digestivo.

Tecnología de Amplificación Isotérmica (LAMP) para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y en salud humana

Vojnov, Adrián; Werbach, S; Carrillo, C; Larocca, L; Stolorowicz, F.

Instituto de Ciencia y Tecnología Dr. Cesar Milstein-CONICET
aavojnov@gmail.com

La Tecnología de amplificación isotérmica LAMP para el diagnóstico de enfermedades de importancia agronómica y salud humana se introdujo en el laboratorio en el año 2008, teniendo como objetivo desarrollar kits moleculares muy simples para ser utilizados para el diagnóstico de enfermedades que abarquen distintas áreas de importancia tanto agronómicas como en salud

humana. Los primeros desarrollos estuvieron enfocados en la detección del agente causal de la cancrrosis y Huanglongbing de los cítricos, *Xanthomonas citri* y *Candidatus Liberibacter*, respectivamente. Un kit, basado en esta tecnología para la detección de Chagas en recién nacidos ya ha sido aprobado por el ente regulador, la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). El método de detección de COVID-19 desarrollado, se basa en la retrotranscripción del genoma del SARS-CoV-2 (ARN) seguida de una amplificación molecular específica de cuatro fragmentos del ADN resultante, a partir del ARN aislado de la muestra clínica (hisopado nasofaríngeo l orofaríngeo, saliva o esputo). La síntesis de un ADNc (retrotranscripción) seguida de amplificación específica del fragmento (amplificación molecular isotérmica) ocurre a temperatura constante (64°C), en un único paso operativo. El resultado se revela a través de un simple cambio de color. En la mezcla de reacción se encuentra presente el Azuldehidroxinaftol (Hydroxynaphtholblue-HNB), un colorante indicador que vira de color violeta a color azul-celeste cuando la reacción de amplificación es positiva. Dicho viraje, se debe al cambio de concentración del magnesio libre en solución conforme disminuyen los dNTPs y aumenta el pirofosfato producto de la polimerización. El desarrollo fue transferido a NEOKIT SAS, una empresa de base tecnológica, constituida por investigadores de CONICET (Adrián Vojnov, Carolina Carrillo, Luciana Larocca, Fabiana Stolowicz), de la Fundación Pablo Cassará (Santiago Werbajh), y el Laboratorio Pablo Cassará S.R.L. NEOKIT SAS ha logrado desarrollar y registrar en el ANMAT dos kits, uno que detecta el COVID-19 a partir de RNA purificado y otro, NEOKIT PLUS, de manera directa sin un paso de purificación. Análisis *in silico* demuestran que, NEOKIT COVID-19 es capaz de detectar todas las variantes de SARS-CoV-2 que están circulando a nivel mundial, incluidas una variante del Reino Unido conocida como 501Y.V1, VOC 202012/01 o linaje B.1.1.7, una variante sudafricana conocida como 501Y.V2 o linaje B.1.351, un linaje brasileño variante conocida como 501Y.V3 o linaje P.1, variantes de California conocidas como B.1.427 y B.1.429.

COVIDAR IgG y COVIDAR IgM, dos kits desarrollados y elaborados en Argentina de gran utilidad en el sector público y privado de salud en relación al manejo del COVID-19

Yanovsky, Marcelo

En representación del grupo COVIDAR, Fundación Instituto Leloir-CONICET

En esta presentación describiré el desarrollo y la caracterización, así como las aplicaciones y uso de test serológicos cuantitativos y robustos que permiten evaluar anticuerpos contra la proteína Spike/Espiga del virus SARS-CoV-2. Dicho test fue desarrollado por el grupo COVIDAR, dirigido por la Dra. Andrea Gamarnik, en colaboración con la Fundación Instituto Leloir, el CONICET, la Universidad de San Martín y el Laboratorio Lemos S.R.L. Los tests conocidos como COVIDAR IgG y COVIDAR IgM, presentan una excelente sensibilidad y especificidad, a la vez que son reproducibles y económicos en comparación a la oferta de tests equivalente disponibles en el mercado. Son tests del tipo ELISA que han sido utilizados por el sector público y privado con múltiples fines, entre los que se encuentran los siguientes: 1) complemento del diagnóstico molecular, en particular monitoreo de pacientes con sintomatología COVID-19 que no han tenido diagnóstico positivo por medio de ensayos de detección del genoma viral y/o proteínas virales, 2) estudios de seroprevalencia a campo, 3) caracterización de plasma de convalecientes, 4) seguimiento de respuesta humoral frente a la vacunación. Las mediciones cuantitativas de anticuerpos contra la proteína Spike del virus SARS-CoV-2 utilizando COVIDAR IgG han mostrado una fuerte correlación con los niveles de anticuerpos neutralizantes en ensayos realizados tanto con virus salvajes como con pseudovirus, constituyéndose en una poderosa herramienta que permite obtener una primera aproximación al grado de protección contra la infección de los individuos evaluados. Hasta el presente se distribuyeron más de 1.000.000 de tests, en su mayoría como donación gestionada por la Fundación Instituto Leloir.

Control del ciclo celular y resistencia a la salinidad y la sequía: «to WEE1 or not to WEE1»

Ochatt, Sergio

Agroécologie, AgroSup Dijon, INRAE, Univ. Bourgogne Franche-Comté, Dijon, France. sergio.ochatt@inrae.fr; <https://orcid.org/0000-0002-2887-4389>; tel: +33 380693161

La presión demográfica ha aumentado la demanda de recursos agrícolas mientras que los cambios climáticos han rarificado las tierras aptas para la agricultura, generando estreses abióticos que exacerban los efectos de las plagas y enfermedades impactando negativamente el rendimiento de los cultivos. Uno de los mayores desafíos actuales es el de comprender y contrarrestar el impacto de esos estreses. Las biotecnologías *in vitro* ofrecen una alternativa eficaz al mejoramiento convencional, sobre todo con el desarrollo reciente de las herramientas genéticas y genómicas necesarias para dilucidar los mecanismos subyacentes a la adquisición de la tolerancia al estrés. Las leguminosas son centrales en una agricultura sostenible, pues fijan simbióticamente el nitrógeno atmosférico reduciendo los requerimientos en fertilizantes, y producen granos ricos en proteínas importantes para la alimentación humana como del ganado. Sin embargo, estas especies son sensibles a la sequía y la salinidad. Usando *Medicago truncatula* (la leguminosa modelo), nuestro equipo ha desarrollado métodos de selección *in vitro* para generar genotipos capaces de resistir la salinidad inducida por NaCl así como el estrés osmótico inducido por polietilenglicol (PEG), que hemos extendido a *Pisum sativum* (arveja). En paralelo, estudiamos la transgénesis produciendo material genéticamente modificado (GM). Decidimos generar material GM y no GM dada la heterogeneidad de la legislación internacional para el cultivo no confinado de plantas GM. En ambos casos es crucial comprender el determinismo genético de la adquisición de resistencia, que puede diferir entre estrés salino e hídrico. Análisis transcriptómicos de la expresión de diversos genes, en presencia o ausencia de estrés, mostraron su íntima implicación en el mecanismo de resistencia. El estrés salino aumentó la expresión de genes implicados en el crecimiento (*WEE1*), la

embriogénesis (*SERK1*), la tolerancia a la salinidad (*SOS1*), la síntesis de prolina (*P5CS*), y el control del ciclo celular (*CCS52* y *WEE1*), mientras que el estrés hídrico aumentó la expresión de *WEE1* y *CCS52*, pero no modificó la de *SERK1* ni *P5CS*, y disminuyó para *SOS1*. Varios caracteres morfológicos y fisiológicos también fueron analizados. *WEE1* fue omnipresente en los mecanismos de tolerancia y fue estudiado en más detalle. La proteína WEE1 quinasa influye en el desarrollo de las plantas afectando el ciclo celular por fosforilación. Sin embargo, se ha cuestionado la analogía con el control del ciclo celular humano por fosforilación vía la tirosina de las Cyclin-dependent kinases (CDKs), por lo que condujimos un estudio *in silico* sobre la conservación estructural de la proteína WEE1 en el reino vegetal focalizado sobre especies de interés, en particular las leguminosas. La distribución filogenética de las secuencias de aminoácidos según un análisis Bayesiano subrayó la conservación general de la proteína, y un análisis detallado de la secuencia confirmó el potencial catalítico de las proteínas WEE1 en las plantas. Sin embargo, la sustitución de una arginina y un glutamato a la entrada del saco catalítico, ilustrada por predicciones 3D, cuestionó la especificidad de esta proteína hacia el substrato y la Tir-fosforilación comparada con la proteína WEE1 humana. Estas diferencias estructurales reafirman la implicación preponderante de la proteína vegetal WEE1 en múltiples procesos de regulación celular y la importancia de *WEE1* como gen candidato para la introducción de resistencia a estreses abióticos por transgénesis.

Funciones y Aplicaciones del Sistema GRF-GIF: de la Regulación de Células Madre a la Regeneración en Plantas y Edición Génica de Cultivos

Palatnik, Javier

Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR), CONICET/UNR
(Argentina) palatnik@ibr-conicet.gov.ar

El sistema de CRISPR/Cas9 se caracteriza por su robustez y alta especificidad para introducir modificaciones dirigidas en el ADN. Sin embargo, éste u otros sistemas de edición del genoma ven limitada muchas veces su aplicación en el mejoramiento de cultivos por las bajas eficiencias de regeneración de plantas o la

disponibilidad de genotipos transformables. En estos casos, la edición genética de células comienza siendo un proceso relativamente sencillo, pero la regeneración posterior de plantas fértiles a partir de estas células puede resultar un proceso laborioso de alta dificultad. Situaciones similares se dan en el momento de generar plantas transgénicas.

Los GRFs (del inglés, GROWTH-REGULATING FACTORs) son factores de transcripción específicos de plantas que poseen un dominio WRC de unión al ADN y un dominio QLQ de interacción de proteína-proteína. Los GRFs forman complejos con los co-reguladores transcripcionales GIF (GRF-INTERACTING FACTORs). Estudios realizados por nuestro grupo han demostrado que los GRFs y GIFs cumplen con diversas funciones en plantas, incluyendo el control de la proliferación celular y el establecimiento del nicho de células madre. A su vez, la mayoría de los factores de transcripción *GRF* en angiospermas son regulados post-transcripcionalmente por el microARN miR396 que se expresa activamente en células en diferenciación.

Estudios recientes han demostrado que los GRFs, y en particular una quimera GRF-GIF expresada como un solo polipéptido, son capaces de estimular los procesos de regeneración y facilitar la edición génica en cultivos de interés agronómico. Asimismo, la existencia de un sistema endógeno compuesto por el microARN miR396 serviría en plantas adultas para reprimir a la quimera GRF-GIF, estimulando los procesos de regeneración a partir de células con genoma editado sin producir luego defectos en el crecimiento de las plantas.

Edición del gen *Gn1a* en la variedad de arroz LLanura 11 (japónica) para aumentar el número de granos usando CRISPR-Cas9

Valdés, S.^a; Marín, D.; Delgado, G.; Selvaraj, G.; Tohme, J.; **Chavarriaga, Paul^b**. Alianza de Bioversity Internacional & CIAT, Colombia ^as.p.valdes@cgiar.org
^bp.chavarriaga@cgiar.org

La edición de genes usando CRISPR/Cas9 hace parte de las Nuevas Técnicas de Mejoramiento (*NBTs*, *New Breeding Techniques*) y es una herramienta poderosa para hacer cambios precisos, dirigidos a genes de interés agronómico, incluso

aquellos involucrados en rendimiento, una característica cuantitativa. CRISPR/Cas9 se ha probado con éxito en múltiples especies vegetales (*Arabidopsis*, tabaco, soya, tomate, yuca, maíz, trigo, sorgo y arroz, entre otras). La generación de knock-outs es la forma más simple de investigar la función de un gen en una planta, por esta razón se usa en el CIAT para generar mutantes en variedades de arroz que permitan, entre otros, entender la función de genes y/u obtener nuevas variedades con características específicas sin alterar otras.

Llanura 11, es una variedad de arroz japónica, seco, obtenida a través de mejoramiento convencional, adaptada a la altillanura Colombiana donde prevalecen los suelos ácidos. Sin embargo, por ser japónica, su rendimiento es menor comparado con el de variedades índicas, que llevan una mutación natural (un codón de parada) en el gen *Gn1a* que incrementa el número de granos, debido a la acumulación de citoquininas en los meristemas de la inflorescencia, aumentando así el número de órganos reproductores (Ashikari et al., 2005).

Usando CRISPR-Cas9 recreamos la mutación *Gn1a* en la variedad Llanura 11, obteniendo tres líneas editadas que mostraron entre 25 y 39% de incremento en el número de granos llenos en invernadero. Igualmente se encontraron líneas con más panículas pero igual o menor número de granos llenos. Las líneas más promisorias se sembraron en campo para verificar los hallazgos de invernadero. Al momento de escribir este resumen, los datos estaban siendo analizados, pero se presentarán para discusión.

Presente y futuro de la edición génica de papa en Argentina

Massa, Gabriela A.

Laboratorio de Agrobiotecnología, IPADS (INTA - CONICET), Balcarce, Argentina.
Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Argentina. CONICET, Argentina
massa.gabriela@inta.gob.ar

La papa (*Solanum tuberosum*) es el tercer cultivo alimenticio más consumido en el mundo, luego del arroz y del trigo. En Argentina, la producción de papa cultivada moderna, se concentra principalmente en Buenos Aires y Córdoba. Entre las características industriales y agronómicas a mejorar en la papa cultivada se

encuentran: el pardeamiento enzimático, el endulzamiento inducido por frío, la forma de los tubérculos, la tolerancia a la enfermedad fúngica causada por *Phytophthora infestans* y la mejor eficiencia en el uso de agua. Debido a la naturaleza agámica y poliploide de la papa, el mejoramiento tradicional puede demorar entre 10-15 años, es por ello que en los últimos años se han incorporado nuevas técnicas biotecnológicas que permiten acortar los tiempos de obtención de nuevas variedades. Entre ellas encontramos a la edición génica mediada por CRISPR/Cas que puede ser utilizada tanto para la pérdida de función de genes (*knock-out*, KO), como para la integración dirigida de secuencias ectópicas. En nuestro grupo utilizamos CRISPR/Cas9 para obtener variedades mejoradas en una o más de las características mencionadas anteriormente. Para obtener papas con aumento en la eficiencia en el uso del agua, realizaremos el KO del gen *CBP80* el cual es un factor de transcripción involucrado en la vía de señalización del ABA. La generación de una papa tolerante a *P. infestans* se aborda desde la posibilidad de realizar el KO de un gen de susceptibilidad (*StDMR6*) y la incorporación vía transgénesis mediada por CRISPR/Cas9 de un gen que permite que la planta metabolice fosfito y por ende se desencadene una resistencia sistémica. La modulación de la forma de los tubérculos es una característica que beneficiaría directamente a la industria alimenticia, ya que mediante el KO de genes homólogos en papa que fueron identificados en tomate, será posible que papas redondas (para chip) puedan ser alargadas (para papas bastón) y viceversa. El pardeamiento oxidativo y el endulzamiento inducido por frío son dos procesos que ocasionan una baja calidad en el producto fresco y/o en los productos procesados. Mediante el KO de los genes de las enzimas involucradas en estos procesos, *StPPO2* para pardeamiento (gen de la polifenol oxidasa 2) e *StInv-Vac* para endulzamiento inducido por frío (gen de la invertasa vacuolar ácida) es posible obtener papas resistentes a ambos procesos. Hasta el momento hemos obtenido papas editadas en ambos genes y en el caso particular del pardeamiento oxidativo se obtuvo una variedad del cv. Desiree con todos los alelos del gen *StPPO2* editados y con un fenotipo acorde a este KO. La incorporación de los componentes CRISPR/Cas9 mediante ribonucleoproteínas permite que los productos obtenidos sean considerados, por los entes de regulación de Argentina, de igual manera que un cultivar obtenido por mejoramiento convencional. Los productos biotecnológicos descriptos no sólo

apuntan a una mejora en la calidad sino a una sostenibilidad productiva y ambiental.

El poder de las sinergias para desarrollar una mejor agricultura con CRISPR

Perez, Carlos

Bioheuris carlos.perez@bioheuris.com

La edición génica aplicada al mejoramiento vegetal habilita un nuevo espacio dentro del ámbito de la innovación tecnológica. Las nuevas técnicas basadas en CRISPR permiten introducir cambios en la secuencia de los genes con gran precisión. Esto ha llevado a que los productos desarrollados por mecanismos SDN1 y SDN2 no sean regulados como GMO, lo que reduce marcadamente el tiempo y el presupuesto necesarios para desarrollar nuevos productos. La colaboración con otros grupos es parte esencial de nuestra filosofía. Con Bioheuris interactúan universidades, institutos académicos, aceleradoras, incubadoras, empresas semilleras, químicas y de edición génica, todos enfocados en el desarrollo de tecnologías que permitan hacer un manejo sustentable de las malezas. El trabajo con los semilleros y químicos optimiza el concepto de los productos. Nuestras plataformas tecnológicas de Biología Sintética (Heuris) y de Edición Génica (SWAP) incorporan técnicas de última generación para el mejoramiento directo de variedades elite de soja, sorgo, arroz, algodón, maíz y alfalfa. La interacción con los programas de mejoramiento y producción de semillas abre un canal de llegada de las nuevas tecnologías a los productores. El resultado de estas sinergias, alineadas por una estrategia de producto enfocada en brindar soluciones a los productores, permitirá afrontar de una manera dinámica los desafíos del manejo de las malezas. Creemos en el potencial de la tecnología CRISPR y de los científicos que la usan, para desarrollar una mejor agricultura.

Xenotrasplante: Un nuevo enfoque biotecnológico para los animales genéticamente modificados de uso agropecuario.

Bertoni, L.^a; **Boari, Paulina**^b; Mühl, M.^c

Área OGM - animal - Coordinación de Innovación y Biotecnología - Dirección Nacional de Bioeconomía - Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional - Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación.e-mail: a|berton@magyp.gob.ar; b|pboari@magyp.gob.ar; c|marimuhl@magyp.gob.ar.

El área de OGM-Animal forma parte de la Coordinación de Innovación y Biotecnología dependiente de la Dirección Nacional de Bioeconomía (DNB), de la Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (MAGyP). Dicha área es la responsable de realizar el apoyo técnico y administrativo a la *Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria* (CONABIA).

A partir del cambio de gestión de gobierno, desde el área OGM-Animal se implementaron lineamientos estratégicos que funcionaran como potenciadoras de políticas públicas. Entre estas acciones, se identificó la necesidad de avanzar en dirección hacia una propuesta que incluya la utilización de animales GM de interés agropecuario para la **salud humana**.

Fue así que, en el año 2020, se posicionó en un lugar preponderante en la agenda de la DNB trabajar, entre otras cosas, en la construcción de un **espacio para abordar la temática de xenotrasplante**.

Para ello, se conformó una mesa de coordinación para generar este espacio interministerial que lograra mantener un compromiso a lo largo del tiempo y pudiera apoyar activamente la temática en general y en particular, impulsando el desarrollo de actividades que estuviesen involucradas en la obtención de animales para xenotrasplantes y su futuro uso en la salud nacional.

Se identificaron entonces, tres acciones a realizar: **a)** Generar una convocatoria desde el MAGyP para la realización de una primera reunión interministerial **b)**

Convocar a los organismos / Instituciones públicas que tienen intervención en la generación o desarrollo de animales que se destinarán al xenotrasplante. **c)** Generar Grupos de trabajo (GT) específicos para abordar temas vinculados al xenotrasplante

Fue así que, a través de la mesa de coordinación se realiza, en el mes de noviembre de 2020, la convocatoria al **1er ENCUESTRO SOBRE**

XENOTRASPLANTE: “Diálogo y convergencias para el avance del xenotrasplante en Argentina” organizado desde el MAGYP, para conformar cuatro (4) GT: *Bioseguridad; Desarrollo en Ciencia y Tecnología; Bioética; y Comunicación*, con participantes provenientes del sector público cubriendo distintos ámbitos, profesiones y organismos.

En la actualidad, los grupos y la mesa de coordinación siguen activos, realizando reuniones periódicas donde trabajan las metas y objetivos, cumpliendo la misión de mantener activa la temática, impulsando actividades y articulando la comunicación con organismos e instituciones relevantes para el xenotrasplante.

De la transgénesis a la edición génica en animales de producción.

La Motta, G. (1,2); Briski, O. (1,2); Ratner, L.(1,2); Salamone, D. (1), **Fernandez-Martin, Rafael** (1,2)*

(1) Laboratorio de Biotecnología Animal (LABBA) Facultad de Agronomía UBA.

(1) Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA) UBA-CONICET. (2)

NewOrgans Biotech SA. *martinf@agro.uba.ar

Nuestro grupo ha sido pionero en el país y la región en la obtención de terneros FIV, bovinos clonados, bovinos transgénicos, equinos clonados, y equinos y ovinos obtenidos por ICSI, y pioneros a nivel mundial en la obtención de embriones bovinos editados. En el 2004 el laboratorio trabajó en simplificar la obtención de animales transgénicos. Los transgénicos animales son generados en el mundo para dos propósitos: 1) Mejorar las capacidades agropecuarias (Aquabounty) o para la producción de proteínas terapéuticas (ATryn®, Ruconest®, Kanuma®). Los costos de liberar al mercado estos animales

transgénicos o sus productos supera en tres o cuatro órdenes de magnitud el costo de generar el animal. Desde el sector público es muy difícil abordar los costos de desregular los productos transgénicos.

La aparición del sistema CRISPR CAS9 abre una nueva era en la manipulación de animales. Por edición génica se pueden generar cambios, no distinguibles de mutaciones al azar, o facilitar la introgresión de modificaciones existentes. Un par

de años después de la aparición del método, editamos embriones bovinos para generar resistencia al síndrome de la vaca loca. Este síndrome es generado por un prión, capaz de inducir el plegamiento anómalo de la proteína PRNP y provocar el aspecto esponjiforme en el sistema nervioso central. El síndrome no tiene cura y es zoonótico. El gen *PRNP* no es esencial y su interrupción no tiene fenotipo aparente. Se diseñaron 5 guías, en una región codificante del exón 3 del gen *PRNP*, y se probaron en células somáticas. En embriones, los guías se probaron como plásmidos de ADN, y como ARN, por el arresto transcripcional de los embriones tempranos. El desarrollo *in vitro* de los embriones se afectó por la inyección de ADN, pero no de ARN. Se registraron deleciones e *indels*, inserciones o *deleciones* de unas pocas bases. En las mejores condiciones, un 75% de los embriones estaban editados.

En los últimos años estamos trabajando en edición génica para xenotrasplante. Por similitudes fisiológicas, por facilidad de manejo y por prolificidad, el cerdo es un buen candidato para obtener órganos. Antes de poder utilizar los órganos del cerdo, se necesitan realizar ciertas modificaciones que eviten el rechazo hiperagudo, la micro coagulación y el rechazo mediado por célula. Estas modificaciones requieren de eliminar funciones de genes porcinos e incluir actividades de genes humanos que generen ambientes de inmunotolerancia. En esta línea, estamos trabajando con embriones *in vitro*. Utilizando las herramientas como plásmidos de DNA, obtuvimos ediciones en simultáneo de tres genes. Con la proteína CAS9 y los guías como ARN, obtuvimos embriones *in vitro* editados de forma más eficaz y sin riesgos de integraciones no deseadas. Recientemente constituimos una Start up con base tecnológica CONICET, NewOrgans Biotech SA, para con financiación privada poder recorrer el camino para dar una respuesta a los pacientes en las listas de espera.

Avances en clonación y edición génica en equinos

Vichera, Gabriel

KHEIRON Biotech S.A, Pilar, Bs As, Argentina. gvichera@gmail.com

En los últimos años, la clonación de caballos se ha centrado en la multiplicación de individuos valiosos principalmente por motivos comerciales. La eficiencia del procedimiento de clonación por transferencia nuclear de células somáticas (SCNT) está relacionada con la capacidad de reprogramación de las células donantes de núcleo a un estado totipotencial, regulado por el ovocito receptor. Por esta razón, la plasticidad celular es crucial para garantizar la progresión del desarrollo embrionario y permitir el nacimiento de descendencia viable por esta técnica. En el equino, una reprogramación nuclear ineficiente con frecuencia lleva a anomalías asociadas a flexuras en extremidades, cordón umbilical agrandado y anomalías en la placenta. Las células madre mesenquimales (Msc) son células que han demostrado su multipotencia tanto *in vitro* como *in vivo*. En el presente estudio, se evaluó la eficacia de Msc derivadas de médula ósea (MO-Msc) como donantes de núcleo en el procedimiento de clonación equina y se comparó el desarrollo *in vivo* y presencia de anomalías anatómicas de los nacidos respecto a clones generados con fibroblastos adultos (FA). Como grupo control, se utilizaron preñeces generadas por inseminación artificial (IA) y posterior transferencia embrionaria. Todas las variables se analizaron mediante la prueba de Fisher ($p < 0,05$). En el grupo Mo-Msc se obtuvieron 37 preñeces de las cuales 21 llegaron a término (56.8%), en el grupo FA se obtuvieron 41 preñeces con 17 a término (41.5%) y en el grupo control de IA 71 preñeces con 64 a término (90.1%). Ambos grupos de clonación alcanzaron tasas similares de partos, con mayores tasas de crías viables en el grupo MO-Msc (20/21, 95.2 %) y en el grupo IA (63/64, 98.4 %) que en el grupo FA (9/17, 52.9 %). Los clones generados con FA mostraron más complicaciones clínicas y defectos anatómicos y sólo 4/9 (44,4%) se consideraron normales. Los defectos presentes en los otros 5 nacidos viables de FA se relacionaron con defectos de flexión, miembro angular y malformaciones del cordón umbilical, mientras que ninguno de los potros nacidos vivos del grupo Mo-MSC tenía este tipo de defecto. Este estudio muestra por primera vez que las Mo-Msc pueden ser utilizadas de forma eficaz como donantes de núcleo en procedimientos de clonación en equinos y que los animales obtenidos son tan sanos como los producidos por IA, mostrando ausencia de anomalías relacionadas con deficiencias en la reprogramación nuclear.

Por otro lado, la tecnología de clonación puede tener ventajas muy importantes si se utiliza en combinación con la tecnología de edición génica, lo que permitiría

obtener caballos con el trasfondo genético del individuo original, pero incorporando nuevas características deseadas en una única generación y de forma no aleatoria. El principal interés en los caballos editados genéticamente se centra en la resistencia a enfermedades, la reversión de enfermedades genéticas y la mejora del rendimiento deportivo. Un gen de gran interés es la miostatina (MSTN), un regulador negativo del desarrollo de la masa muscular. Aquí, nuestro objetivo fue eliminar la expresión del gen MSTN, utilizando el sistema CRISPR/Cas9 y generar por primera vez embriones equinos editados genéticamente. Para ello nucleofectamos fibroblastos fetales (FF) de caballo con 1, 2 o 5 μ g de 2 gRNA (sgRNA 1 y sgRNA 2) diferentes dirigidos al primer exón de *mstn*. Una vez que los gRNA y Cas9 se insertaron en las células, fue necesario identificar aquellas células que tenían el *mstn* mutado. Las células individuales se aislaron, expandieron y genotiparon para el locus MSTN Exon 1 mediante amplificación por PCR y secuenciación de Sanger. Observamos que el aumento de las concentraciones de plásmido mejora la eficacia de la mutación. La eficiencia fue del 63,6% para gRNA1 (14/22 líneas celulares clonales editadas) y 96,2% para gRNA2 (25/26 líneas celulares clonales editadas). Se eligieron tres líneas celulares clonales para generación de embriones por SCNT: una con una edición monoalélica 3/153 (2%), una con edición bialélica heterocigota 3/155 (2%) y una con edición homocigota bialélica 3/159 (2%) que generaron blastocistos editados en todos los casos. Además, se utilizaron como controles líneas FF 8/140 (6%) y células Msc 9/73 (12%) sin editar. Las tasas de desarrollo más bajas que mostraron las células editadas como donantes nucleares probablemente se debieron a los mayores pasajes celulares necesarios para el aislamiento y la expansión de la línea celular. En resumen, demostramos que es posible editar fibroblastos equinos por CRISPR / Cas9 con alta eficiencia y especificidad, generando por primera vez embriones equinos editados genéticamente en estadio de blastocisto por SCNT. Nuestro objetivo a largo plazo es identificar secuencias de alelos naturales beneficiosas presentes en el genoma de algunos individuos e incorporarlas en otros para dotarlos de las características deseadas.

Modelado y corrección de enfermedades genéticas mediante CRISPR y células madre pluripotentes inducidas

Moro, Lucia Natalia*; Amín, G.; Catañeda, S.; Miriuka, S.

LIAN-FLENI-CONICET, Belén de Escobar, Buenos Aires, Argentina.

[*lmoro@fleni.org.ar](mailto:lmoro@fleni.org.ar)

El descubrimiento de la tecnología de CRISPR/Cas9 para edición génica ha sido la mayor revolución científica de los últimos tiempos y ha permitido el desarrollo de nuevas oportunidades terapéuticas, entre otras grandes aplicaciones. A su vez, esta tecnología sumada a la disponibilidad de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) paciente-específicas con potencialidad de diferenciación a diferentes tipos celulares, ha marcado una nueva era en el campo de la medicina de precisión. La utilización de ambas tecnologías ha hecho posible el modelado de enfermedades *in-vitro* con el objetivo de descubrimiento de nuevas terapias y estudios toxicológicos de drogas. Es posible modelar una enfermedad *in-vitro* a partir de la generación de iPSCs de pacientes o a partir de la generación de mutaciones reportadas de enfermedades genéticas en iPSCs normales. Nosotros nos encontramos realizando ambas estrategias para enfermedades genéticas cardíacas y musculares. Por un lado, hemos generado por recombinación homóloga mediada por CRISPR/Cas9 dos líneas de iPSCs con un codón de stop prematuro en el gen de placoglobina (PKG), una proteína desmosomal que se encuentra alterada en la cardiomiopatía displasia arritmogénica del ventrículo derecho (C/DAVD). Estas líneas de iPSCs *knock-out* (KO) para PKG fueron sometidas a diferenciación cardíaca en monocapa observando un déficit en la diferenciación al linaje cardíaco, lo que denota la relevancia de esta proteína en los cardiomiocitos, nunca antes reportado en humanos. Por otro lado, hemos generado y caracterizado iPSCs a partir de muestras de sangre de 3 pacientes pertenecientes a una familia que porta una duplicación heterocigota de un triplete en el exón 6 (1059_1061DupGGA) del gen de desmina, la cual no ha sido reportada anteriormente. Esta mutación conlleva a una desminopatía, caracterizada por la formación de agregados proteicos que alteran el normal funcionamiento de las células musculares esqueléticas y cardíacas. Las líneas Las iPSCs de los pacientes también fueron diferenciadas a cardiomiocitos exitosamente con el objetivo de caracterizar los mismos, estudiar el fenotipo molecular comparándolos con cardiomiocitos normales, y desarrollar una estrategia de edición génica para corregir dicha mutación directamente sobre el

tejido cardíaco, emulando así una terapia *in-vivo*. Para ello nos encontramos desarrollando la tecnología de adenovirus asociado (AAV) como vector del sistema CRISPR/Cas9, el cual está siendo actualmente utilizado en ensayos clínicos de terapias génicas en pacientes con diferentes patologías genéticas. Hasta el momento hemos logrado transducir cardiomiocitos con un AAV que porta la proteína fluorescente GFP como marcador para sentar las condiciones óptimas de transducción con el AAV portador del sistema CRISPR dirigido a la mutación de desmina. Como conclusión, el modelado de enfermedades genéticas mediado por CRISPR y la utilización de iPSCs permitirá desarrollar terapias paciente-específicas eficientes, siendo posible evaluar el efecto benéfico y posibles efectos secundarios sobre el tejido involucrado de manera no invasiva.

Secuenciación y análisis del genoma de coníferas: estudio de *Pinus pinaster*

Sterck, L. ^(1,2); Cabezas, J.A. ^(3,4); Ávila, C. ⁽⁵⁾; de Miguel Vega, M. ⁽⁶⁾; Li, Z. ^(1,2); de María, N. ^(3,4); Rodrigues, A. ^(7,8); Cañas, R.A. ⁽⁵⁾; Ehrenmann, F. ⁽⁶⁾; Guevara, Á. ^(3,4); Chaves, I. ^(7,8); Mongy, M. ⁽⁶⁾; López-Hinojosa, M. ^(3,4); de la Torre, F.N. ⁽⁵⁾; Vélez, M-D. ^(3,4); Pizarro, A. ⁽⁹⁾; Manjarrez, L.F. ^(3,4); Vasques Costa, B. ^(7,8); Pascual, M.B. ⁽⁵⁾; Alioto, T. ^(10,11); Codoñer, F.M. ⁽¹²⁾; Collada, C. ^(4,13); Salse, J. ⁽¹⁴⁾; De la Torre, A.R. ⁽¹⁵⁾; Arrillaga, I. ⁽¹⁶⁾; Miguel, C. ^(7,8,17); Plomion, C. ⁽⁶⁾; Cánovas, F.M. ⁽⁵⁾; Van de Peer, Y. ⁽²⁾; Díaz-Sala, C. ⁽⁹⁾; **Cervera, María-Teresa** ^{(3,4)*}

(1) Ghent University, Department of Plant Biotechnology and Bioinformatics, Ghent, Belgium. (2) VIB Center for Plant Systems Biology, Ghent, Belgium. (3) Dpto. Ecología y Genética Forestal, Centro de Investigación Forestal (CIFOR), Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA-CSIC), Madrid, Spain. (4) Unidad Mixta de Genómica y Ecofisiología Forestal, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria / Universidad Politécnica de Madrid (INIA/UPM), Madrid, Spain. (5) Grupo de Biología Molecular y Biotecnología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga, Spain. (6) BIOGECO, INRA, Université de Bordeaux, Cestas, France. (7) Instituto de Tecnologia Química e Biológica António Xavier, Universidade Nova de Lisboa (ITQB-NOVA), Oeiras, Portugal. (8) Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica (iBET), Oeiras, Portugal. (9) Dpto. de Ciencias de la Vida, Facultad

de Biología, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Spain. (10) CNAG-CRG, Centre for Genomic Regulation (CRG), The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain. (11) Universitat Pompeu Fabra (UPF), Barcelona, Spain. (12) Lifesequencing / ADM Nutrition R&D, Paterna, Valencia, Spain. (13) Grupo de Investigación en Genética, Fisiología e Historia Forestal (GENFOR), Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, Spain. (14) GDEC, INRA-UCA, Clermont-Ferrand, France. (15) School of Forestry, Northern Arizona University, Flagstaff AZ86011, Arizona, USA. (16) ERI Biotec/Med, Dpto. Biología Vegetal, Universidad de Valencia, Valencia, Spain. (17) Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, BiolSI - Biosystems & Integrative Sciences Institute, Lisboa, Portugal.

*cervera@inia.es

El pino marítimo, también conocido como pino resinero (*Pinus pinaster* Ait.), es una conífera de elevado valor ecológico y económico, asociada principalmente a la producción de madera y resina. Autóctona del Mediterráneo occidental, muestra una distribución fragmentada, ocupando diferentes ecosistemas. Esta especie se ha empleado como conífera modelo en el estudio de los caracteres productivos y adaptativos en el suroeste de Europa.

El consorcio internacional, formado por los grupos de investigación que presentan este trabajo, ha desarrollado el draft de la secuencia del genoma de este pino europeo combinando secuencias *mate-pair* (Roche 454 FLX Titanium), *paired-end* (Illumina) y ONT. El ensamblaje se ha apoyado en datos de mapeo genético y transcriptómicos. El transcriptoma de referencia, en sentido amplio, incluye datos procedentes de distintos genotipos, órganos y tejidos de árboles sometidos a distintos tratamientos y en distintas etapas del desarrollo, incluyendo una gran variedad de tipos celulares aislados mediante microdissección láser. Asimismo, el mapa de ligamiento genético de Pinaceae, con una elevada densidad de marcadores SNP y del que *Pinus pinaster* forma parte, no sólo permitió asignar algunos de los scaffolds a pseudomoléculas, sino también profundizar en el análisis evolutivo de la especie, estudio comparativo que se complementó con el análisis de secuencias genómicas de pino y abeto.

El draft del genoma ensamblado es una herramienta clave para desentrañar los procesos biológicos implicados en la expresión de caracteres de interés económico y adaptativo, de gran importancia en un contexto de cambio climático

como el que enfrenta la Cuenca Mediterránea. Entre estos caracteres, nuestro grupo estudia la respuesta a sequía. Para ello estamos empleando aproximaciones complementarias basadas en el estudio comparativo de genotipos de *P. pinaster* que muestran diferencias contrastadas en su susceptibilidad a sequía, que se discutirán en esta presentación.

Biodiversidad de trigo: el camino para afrontar la seguridad alimentaria y el cambio climático

Wheat biodiversity: the way to face food security and climate change.

Sansaloni, Carolina

CIMMYT, México. c.sansaloni@cgiar.org

Climate change and the rapidly growing human population trigger the demand to explore and unlock unutilized genetic resources for feeding future generations. In wheat, undomesticated wild species, crop wild relatives, and landraces represent sources of new variation for cultivar improvement. However, their resilience and adaptive capacity mechanisms remain largely untapped and poorly understood. The Seeds of Discovery initiative, a pioneering project led by CIMMYT and aiming to unlock and utilize novel genetic diversity held in genebanks, has performed the largest crop genotyping effort and biggest diversity analysis ever done in any species using DArTseq™ technology in more than 80,000 genebank accessions. The analysis was divided into three biological categories: 4,206 wild relatives, 20,000 tetraploid and 60,000 hexaploid accessions. Our analysis has identified more than 300,000 filtered high-quality DArTseq-SNPs and SilicoDArT markers. All markers generated were aligned to three reference maps: the IWGSC RefSeq v1.0 reference genome, the durum wheat genome (cv. Svevo), and the DArT consensus map. On average, 72% of the markers align uniquely on the reference genomes and 50% are linked to genes. The study shows that breeding programs have greatly reduced diversity of wheat, although a few elite lines explore a wide range of the diversity found among landrace materials and indicates that 2.6% of hexaploid and 15% of tetraploid accessions are mislabeled, and genebank management can now correct this information. To date this represents a unique

and great resource for the global research community to underpin the breakthroughs necessary to develop the crops of the future.

Avances ómicos y mejoramiento genético para la seguridad alimentaria en África y Asia

Campos, Hugo

International Potato Center, Lima, Perú. h.campos@cgiar.org

El desafío de asegurar la seguridad alimentaria en África y Asia permite enfrentar un contexto de explosión demográfica, creciente urbanización, y más de 40% de los niños menores a 5 años al día de hoy deficientes en micronutrientes como Fe y Zn. Dentro de este contexto, acelerar los procesos de mejoramiento genético y desarrollar variedades de rápida adopción representa un imperativo tanto económico como moral. Los vertiginosos avances en términos del uso rutinario de tecnologías del tipo high-throughput, genómicas como PacBio y Nanopore, metabolómicas como espectroscopía de masa, otros tipos de espectroscopia y resonancia magnética nuclear, y transcriptómicas como el desarrollo de RNA Seq-Atlas, permiten la predicción de fenotipos y, en conjunto con herramientas bioinformáticas y de simulación, el establecimiento de enfoques de biología de sistemas. De este modo, es posible dilucidar las bases biológicas de los rasgos (“traits”) multigénicos a ser manipulados mediante programas de mejoramiento genético. Del mismo modo, la integración de enfoques ómicos permiten aumentar la capacidad para identificar objetivos moleculares de esfuerzos de edición génica. Durante la presentación se discutirán ejemplos aplicados sobre como los enfoques ómicos se utilizan para mejorar tanto la seguridad alimentaria como la calidad de los agricultores de África y Asia.

Genómica y fertilidad en el caballo: Donde estamos y hacia dónde vamos

Demyda Peyrás, Sebastian (1,2); Valera, M. (3); Pirosanto, Y. (2); Molina, A. (4)

(1) Departamento de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina; (2) Consejo Nacional de

Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) La Plata, La Plata, Argentina; (3) Escuela de Ciencias Agroforestales, Universidad de Sevilla, España; (4) Departamento de genética, Universidad de Córdoba, España

El caballo es uno de los animales domésticos más retrasados en términos de desarrollos genómicos. Esto se debe en parte a la existencia de pocas herramientas de genotipado masivo, en comparación con otras especies, como así también a que la anotación funcional de su genoma es mucho menos detallada y al reducido número de animales genotipados a nivel mundial.

En cuanto a la fertilidad, el caballo presenta características únicas. Su producción está generalmente más asociada a su habilidad deportiva o funcional que a habilidad reproductiva. Por este motivo, las variables o caracteres utilizados en otras especies para evaluar su eficacia reproductiva son difíciles (o imposibles) de determinar en muchas razas o bien o producen grandes errores debido a la dificultad de modelar correctamente el efecto ambiental. A esto debe sumarse la falta de registros reproductivos, la utilización como reproductores de animales con reducida fertilidad debido a su performance atlética, o al uso de biotecnologías reproductivas (como en el caso del caballo de polo argentino). Es por ello que obtener una idea real del potencial genético de la fertilidad de un individuo es muy complicado. Este hecho produce además una falta de consenso respecto a cuáles son los parámetros reproductivos más adecuados (particularmente en yeguas) para medir el potencial reproductivo de un animal. Es por ello que el desarrollo de caracteres reproductivos específicos en el caballo es hoy por hoy una de las tareas pendientes más importantes.

Es bien sabido que el caballo es afectado por la existencia de síndromes cromosómicos asociados con la infertilidad en mucho mayor medida que el resto de las especies domésticas. En este sentido, la genómica se ha vuelto una herramienta fundamental para su análisis. Hoy por hoy contamos con herramientas que nos permiten detectar de manera precoz y muy eficiente la existencia de animales portadores de este tipo de patologías, incluso utilizando los datos producidos rutinariamente durante las pruebas de filiación que se realizan en la mayoría de las razas del mundo. Pero además, con el advenimiento de la genómica basada en SNP-arrays, este tipo de metodologías pueden tener

resultados mucho más precisos y confiables, incluso utilizando biopsias embrionarias.

Otro efecto genético que afecta a muchas razas de caballos a nivel mundial es el incremento de los valores de endogamia de los individuos. Esto ha sido demostrado utilizando valores de endogamia (F) obtenidos mediante datos de pedigrí (F_{PED}). En la actualidad, este tipo de estudios han sido reemplazados por análisis genómicos basados en homocigosis molecular (runs of homozygosity, (ROH)), que permiten realizar análisis mucho más pormenorizados mediante la estimación de un F molecular (F_{ROH}). Esto además, permiten detectar cuales son las regiones del genoma con mayor incidencia en el control de la fertilidad de la especie.

Finalmente, el incremento de información genómica disponible en la especie, particularmente durante los últimos dos o tres años, hace que comience a ser plausible la realización de estudios de asociación de genoma completo (GWAS). Estos métodos intentan detectar regiones (o marcadores) genómicas asociadas al potencial genético-reproductivo de los animales. Si bien existen estudios realizados evaluando la fertilidad en padrillos, su implementación en yeguas es aún prácticamente inexistente. Cabe aclarar que su realización en el caballo aún depende de la existencia de datos fenotípicos confiables que permitan detectar diferencias genéticas entre los caballos.

Es por ello que, si bien se han producido avances importantes, el caballo doméstico es una especie en la cual la genómica tiene un gran potencial de desarrollo en el futuro cercano.

Ambiente uterino y programación fetal en bovinos: una mirada desde lo ómico

Peñagaricano, Francisco

Department of Animal and Dairy Sciences, University of Wisconsin-Madison,
Madison WI, USA

Los estímulos o agresiones intrauterinas, como cambios en la dieta o la exposición al estrés térmico, pueden inducir cambios permanentes en la estructura, la fisiología y el metabolismo de la descendencia. Este fenómeno se ha denominado

programación fetal y puede tener consecuencias duraderas o de por vida. Los mecanismos moleculares que subyacen a la programación fetal no están claros, aunque existe una creciente evidencia que cambios en el ambiente intrauterino pueden modificar el epigenoma del feto y estos cambios pueden conducir a cambios fenotípicos transgeneracionales. Nuestro objetivo es integrar datos multiómicos, incluyendo datos de expresión génica y metilación del ADN, para descifrar los mecanismos que explican el efecto que tiene el ambiente uterino sobre el desempeño futuro de la descendencia. Nuestra investigación ha demostrado que: (i) la nutrición materna en vacas de carne altera la metilación del ADN y la expresión génica en el músculo esquelético del feto, incluyendo alteraciones en el empalme alternativo de genes y cambios en la estructura de redes génicas; (ii) el estrés por calor en vacas de leche altera la metilación del ADN, la expresión génica e impacta la morfología del hígado y la glándula mamaria en la descendencia. Nuestros hallazgos demuestran que factores intrauterinos durante la gestación, como la dieta materna o el estrés por calor, modifican el epigenoma fetal, induciendo cambios en la expresión génica, lo que se traduce en cambios fenotípicos permanentes con consecuencias de por vida. Estos cambios fenotípicos pueden tener importantes implicancias afectando tanto el desempeño productivo como reproductivo de los animales.

Aplicación de tecnologías -ÓMICAS para acelerar la mejora genética animal: casos prácticos

Cánovas, Angela

Centre for Genetic Improvement of Livestock, Department of Animal Biosciences, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

En los últimos años, los criadores han combinado el uso de la evaluación fenotípica y la estimación de los valores genéticos para tomar decisiones de selección genética en ganado vacuno y lechero, lo que ha dado como resultado ganancias genéticas del 2% anual. Sin embargo, la aplicación más extensa de la genómica se ha producido en la industria láctea con la estimación de valores genéticos moleculares que ha mejorado la eficiencia de selección en un orden de

magnitud superior. A pesar de un creciente conocimiento molecular y fisiológico de los caracteres complejos, todavía se sabe poco sobre los genes que determinan los caracteres y su función, permaneciendo todavía una importante fuente inexplicable de variación fenotípica en el ganado. En este contexto, una comprensión más completa de los genes, las vías reguladoras y las redes y conexiones entre genes involucrados y asociados con los caracteres económicamente importantes en el ganado vacuno y lechero proporcionaría una valiosa información para ayudar y mejorar el manejo reproductivo y a seleccionar genéticamente de manera más precisa. El uso de las tecnologías -ÓMICAS como herramientas complementarias en la mejora genética animal permite avanzar en la identificación de genes funcionales dentro de un enfoque de biología de sistemas. La combinación e integración de los resultados obtenidos usando múltiples tecnologías -ÓMICAS (por ejemplo, transcriptómica, proteómica, metabolómica y metagenómica) en un enfoque de biología de sistemas y la posterior confirmación de los resultados utilizando metodologías independientes permite la identificación de genes reguladores candidatos y SNP (single nucleotide polymorphism) funcionales con un efecto pleiotrópico asociado con caracteres económicamente importantes en la producción animal como la reproducción, la eficiencia alimentaria, la calidad del producto y resistencia a enfermedades. En la ponencia se incluyen ejemplos prácticos mostrando cómo la aplicación de tecnologías -ÓMICAS contribuye a completar el rompecabezas asociado con el significado biológico de caracteres complejos y económicamente importantes, mejorando el desarrollo de estrategias de selección genética en bovino.

Biotecnología e impacto social

Biotecnología vegetal, cómo los productos llegan (¿llegan?) a la sociedad.

Miranda, Patricia (1); Levitus, Gabriela (2), Bravo Almonacid, Fernando (3)

(1) INDEAR; 2) Argenbio; 3) INGEBI.

El desarrollo de una nueva tecnología es un proceso complejo, más allá de lo científico, en el cual están involucrados diferentes componentes de la sociedad.

Cada uno de ellos tiene para aportar su visión, experiencia y capacidad. Para que el desarrollo llegue a la sociedad, se requiere el entendimiento y trabajo coordinado entre las partes. El derrotero de los desarrollos locales más avanzados puede ayudarnos a mejorar el proceso de convertir nuestras potencialidades en realidades.

Desarrollo de tecnologías avanzadas de microalgas para una economía circular

Navarro Llorens, Juana María

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Complutense de Madrid, c/Jose Antonio Novais 12, 28040 Madrid, España. joana@bio.ucm.es

Nuestro grupo trabaja dentro del Proyecto ALGATEC-CM para el Desarrollo de tecnologías avanzadas de microalgas para una economía circular. ALGATEC-CM es una plataforma científico-tecnológica que a través de un consorcio multidisciplinar de grupos de investigación, persigue el desarrollo de procesos de explotación sostenible de las microalgas. La unión de grupos con líneas de investigación complementarias permite un proceso sinérgico en la tecnología de producción y valorización de microalgas dentro del concepto de biorrefinería y economía circular. Aunque los centros de trabajo son públicos, el foco de negocio está orientado hacia las PYMEs madrileñas.

El principal objetivo del consorcio es el desarrollo de una tecnología de máximo aprovechamiento de las microalgas mediante el reciclado de aguas residuales y el aprovechamiento energético de la biomasa, optimizados desde una perspectiva de integración económica. Para alcanzarlo, ALGATEC se estructura en tres LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: 1.- Optimización del cultivo de microalgas en aguas residuales de modo que no se compita con los recursos de agua dulce; 2.- Aprovechamiento de la biomasa en forma de productos de alto valor añadido y bioenergía. Las microalgas son materias primas atractivas porque sus paredes celulares son ricas en celulosa e incluyen en su composición productos valiosos como los carotenoides y lípidos con ácidos grasos omega3. Las microalgas constituyen por tanto una poderosa plataforma biotecnológica para la producción de una amplia gama de productos de valor añadido a partir del reciclado de

residuos. 3.- Potenciar la economía circular en el trabajo con microalgas. La obtención de productos de interés industrial ayuda a la viabilidad económica de los procesos. Pero para conseguirlo, es necesario modelizar la integración energética de los diferentes procesos y determinar los aspectos a mejorar.

El trabajo conjunto de los distintos grupos sobre estos objetivos permite generar conocimiento y contribuir al progreso para la explotación sostenible y viable de las microalgas.

Por otra parte, los miembros de este consorcio han dado origen y participan en la red latinoamericana de CYTED RENUWAL. Esta red persigue potenciar estrategias sostenibles que permitan a las empresas iberoamericanas mejorar la gestión del reciclado de sus efluentes y subproductos para obtener nuevos productos de valor añadido. De este modo se busca beneficios no solo medioambientales sino también económicos en el trabajo biotecnológico con microalgas.

Procesos industriales relacionados con la producción de microalgas

Acién Fernández, F. Gabriel

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Almería, 04120 Almería, España facien@ual.es

En este trabajo se analiza el potencial de las microalgas para el desarrollo de procesos sostenibles que contribuyan a la bioeconomía. Las microalgas se han propuesto como solución a algunos de los mayores problemas de la humanidad. Sin embargo, proporcionar expectativas demasiado optimistas es muy arriesgado. Estas grandes expectativas no solo se basan en opiniones y noticias, sino también en una gran cantidad de artículos científicos ya publicados. En estos documentos, se demuestra el potencial de las microalgas para contribuir a campos muy diferentes, desde la producción de compuestos de alto valor para aplicaciones farmacéuticas y cosméticas, hasta la producción de productos básicos como bioplásticos y biocombustibles, entre otros, e incluso para el tratamiento de aguas

residuales y de gases de combustión. Al analizar el mercado actual de las microalgas se observa como las aplicaciones comerciales están relacionadas con la producción de productos de alto valor, especialmente para el sector alimentario, bien como ingredientes alimentarios o como parte de alimentos más saludables. En mucha menor extensión, las microalgas también se utilizan en salud como nutracéuticos o en cosmética. Sin embargo, no todas las aplicaciones de alto valor son realistas en la actualidad. Además, las aplicaciones emergentes como las relacionadas con la producción de productos químicos y biocombustibles no son hoy factibles comercialmente. Sin embargo, en los últimos años se han desarrollado algunos casos iniciales exitosos relacionados con la producción de fertilizantes y el tratamiento de aguas residuales. Para ampliar la contribución de las microalgas a la bioeconomía es obligatorio aumentar en gran medida la escala de producción actual, así como el abanico de aplicaciones. En resumen, es obligatorio desarrollar nuevos procesos sostenibles capaces de producir una gama de productos de valor agregado para aplicaciones emergentes, cumpliendo con los requisitos sociales y del mercado. Para ello es necesario incrementar la capacidad de producción superior a cientos de toneladas al año y reducir el coste de producción por debajo de 1 € / kg, al mismo tiempo que se cumplen los requisitos de sostenibilidad, entre otros. Con este objetivo se desarrolla el proyecto SABANA, dirigido a desarrollar y demostrar una biorrefinería integrada basada en microalgas, para la producción de una gama de productos de valor añadido para la agricultura y la acuicultura, recuperando también los nutrientes de las aguas residuales y cumpliendo con los requisitos sociales y del mercado. En este proyecto se ha demostrado que es posible la producción a gran escala de microalgas para aplicaciones emergentes como las relacionadas con la agricultura y la acuicultura. El conocimiento y las tecnologías desarrolladas permiten lograr procesos confiables que operan bajo estándares industriales. Las tecnologías de cosechado y procesamiento ya desarrolladas permiten obtener productos de valor a un costo razonable. Los ensayos de campo ya desarrollados confirman la calidad y comerciabilidad de los productos objetivo.

Bacterial Synthetic Biology as a strategy towards production of value-added xeno-compounds

Nikel, Pablo Iván

Systems Environmental Microbiology Group, The Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability (DTU Biosustain), Technical University of Denmark, Kongens Lyngby, Denmark, pabnik@biosustain.dtu.dk

Fluorine is a key element in the synthesis of molecules broadly used in medicine, agriculture and materials. Addition of fluorine to organic structures represents a unique strategy for tuning molecular properties, yet this atom is rarely found in Nature and approaches to integrate fluorometabolites into the biochemistry of living cells are scarce. To overcome this state of affairs, we have engineered synthetic gene circuits for organofluorine biosynthesis in the platform bacterium *Pseudomonas putida*. By harnessing fluoride-responsive riboswitches and the orthogonal T7 RNA polymerase, biochemical reactions needed for *in vivo*

biofluorination are wired to the presence of fluoride (i.e. circumventing the need of feeding expensive additives). Biosynthesis of fluoronucleotides and fluorosugars in engineered *P. putida* is demonstrated with mineral fluoride both as the only fluorine source (i.e. as a substrate of the pathway) and as inducer of the synthetic circuit. I will also discuss how these *neo*-metabolism approaches expand the chemical landscape of cell factories by providing new alternative biosynthetic strategies towards fluorinated building-blocks.

Desarrollo del cultivo *in vitro* de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en la BioFábrica de la Universidad Nacional de Hurlingham, para generar foco productivo en la región y elaboración de alimentos en base a este cultivo con propiedades nutritivas y fitomedicinales (o nutracéuticas).

Rudoy, Valeria Inés

Universidad Nacional de Hurlingham (UNAHUR), valeria.rudoy@unahur.edu.ar

El cultivo de YACÓN, conocido en el mundo científico como *Smallanthus sonchifolius*, pertenece a la familia *asteráceae*.

El cultivo se ha ido expandiendo y ya existe en más de 20 países en el mundo, entre los que se destacan Perú, su país de origen y el que probablemente posee la mayor extensión cultivada (unas 1000 Ha), y China donde se ha producido el mayor aumento (600 ha y en expansión, Dou De Quiang Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, China, comunicación Personal) en los últimos años.

En Argentina el yacón ha tenido siempre característica marginal. Existen probablemente varias decenas de localidades donde se practica el cultivo a nivel familiar, esencialmente para el autoconsumo o para comercialización local. La única localidad donde el cultivo ha adquirido cierta trascendencia es Bárcena, provincia de Jujuy, en la entrada de la Quebrada de Humahuaca. Existe cultivo comercial en pequeña escala en el valle de Lerma, provincia de Salta, exclusivamente para el abastecimiento local de Salta capital. En la provincia de Tucumán han existido dos emprendimientos comerciales de pequeña escala, que han abastecido a supermercados locales, pero sin continuidad. La clave del éxito relativo de la experiencia de Bárcena en la actualidad, es su paso al procesamiento y generación de productos envasados, derivados tanto de hojas como de raíz, con buena presentación, palatabilidad y durabilidad.

En Tucumán el Laboratorio de Investigaciones Biológicas de las Yungas (Alfredo Grau) realizó en los últimos años una serie de experiencias del cultivo en la zona y en colaboración con productores locales y PYMES (en este caso la PYME Acheral SA Cítricos y Derivados). Bajo condiciones controladas se han logrado rendimientos de hasta 50 tn/ha. Ello debido a incorporación de prácticas intensivas y suelos de calidad. Sin dudas, el yacón podría cultivarse en el conurbano bonaerense.

La técnica *in vitro* que estamos desarrollando en la BioFábrica de UNAHUR permite ofrecer genética saneada de las plantas para un seguimiento detallado de la evolución y comportamiento en la región.

El paso siguiente es la industrialización, es decir la elaboración de harinas, extractos y jarabe que sirven como insumo para la elaboración de alimentos. En

Perú existen varias empresas que están exportando productos procesados de yacón a Estados Unidos, Europa y Asia.

La raíz o 'fruta', comestible, se asemeja a una batata de aspecto, pero se come cruda y es muy dulce. Tiene interesantes propiedades en la reducción de lípidos post prandiales, reducción de triglicéridos, bajar el colesterol (LDL), reduciendo el peso corporal. A su vez, como los principales azúcares son FOS (fructooligosacaridos) éstos no se acumulan y permiten una mejora en la función digestiva.

Los fructooligosacáridos son los mejores prebióticos conocidos, ya que se ha demostrado su efecto bifidogénico al no ser digerido por las enzimas intestinales. En colon son fermentados de forma anaerobia por la microflora, incrementando así la población de bacterias benéficas, impidiendo el crecimiento de organismos patógenos que son responsables de la producción de toxinas y compuestos que pueden ser potencialmente cancerígenos. Experimentalmente (Bruggebcate et al. 2006) se ha demostrado que la asociación de la inulina más oligofructosa presente en el yacón puede prevenir la colitis al modificar la microflora intestinal actuando como un prebiótico.

En la provincia de Tucumán, a través del INQUINOA (química) e INSIBIO (farmacología) institutos de CONICET que funcionan en la Universidad Nacional de Tucumán, se ha estado trabajando en la validación de las materias primas peruanas (a través de un convenio CIP-Conicet) y poseen todas las capacidades y experiencia para llevar a cabo los estudios pre-clínicos y clínicos, estandarización de las materias primas, etc.

Activación de la respuesta de defensa contra el patógeno

***Botrytis cinerea* mediada por un compuesto producido por el patógeno *Colletotrichum acutatum* en frutilla**

Tomas-Grau, R.H. (1); Hael-Conrad, V. (2); Requena-Serra, F. J. (1); Perato, S. M. (1); Caro, M. P. (2); Salazar, S. M. (2) y **Díaz Ricci, Juan Carlos.** (1)*

(1) Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO, CONICET-UNT), Chacabuco 461, San Miguel de Tucumán, T4000, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Famaillá, INTA, T4132, Famaillá, Tucumán, Argentina. * juancdr@gmail.com.

El control de las enfermedades fúngicas en agricultura requiere el uso intensivo de fungicidas de síntesis que tiene un fuerte impacto en la salud y el medioambiente. Por esto, en los últimos años se ha intensificado la búsqueda de compuestos naturales, respetuosos del medio ambiente y la salud, que puedan contribuir a la sustitución total o parcial de los agroquímicos de síntesis. En el laboratorio de Biotecnología Vegetal de INSIBIO se está investigando hace tiempo este tipo de compuestos que puedan aportar una alternativa ecológica al manejo de enfermedades en plantas. Trabajando con patógenos fúngicos de distintos estilos de vida (e.g. biotróficos y necrotróficos) observamos que plantas de frutilla tratadas con extractos del hongo hemibiotrófico *Colletotrichum acutatum*, agente causal de la “antraconosis”, adquieren resistencia contra el hongo necrotrófico *Botrytis cinerea* agente causal del “moho gris”. Evaluación de marcadores bioquímicos, fisiológicos y moleculares permitieron concluir que esa resistencia

adquirida se debe a la inducción de una respuesta de defensa dependiente de la vía de señalización del Etileno. Se pudo determinar que la activación de esa respuesta de defensa contra *B. cinerea* se debe a un compuesto de bajo peso molecular (<1kDa) sintetizado y secretado por el hongo *C. acutatum*. Estos resultados revelan que un “cross-talk” entre las vías de señalización de la respuesta de defensa contra patógenos biotróficos y necrotróficos tiene lugar en plantas de frutilla y que puede ser utilizado como recurso biotecnológico para el tratamiento del “moho gris”.

La bioeconomía y la transformación de los sistemas alimentarios de América Latina y el Caribe

Chavarría, Hugo

Gerente del Programa de Bioeconomía y Desarrollo Productivo. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)

La presentación se centra en analizar el potencial de la bioeconomía para el fortalecimiento y transformación de los sistemas alimentarios de América Latina y el Caribe, y en discutir la agenda pendiente para promoverla y aprovecharla.

La presentación inicia analizando el potencial de contribución de la bioeconomía en 5 áreas: 1) las ganancias en eficiencia y sostenibilidad que se dan en los procesos de los sistemas alimentarios gracias a la convergencia tecnológica; 2) las posibilidades que ofrece la bioeconomía para transformar los territorios rurales, generando ingresos, empleo y desarrollo; 3) el potencial que ofrecen las nuevas tecnologías de la bioeconomía para un aprovechamiento más eficiente y sostenible de los recursos de los sistemas alimentarios a través de la agregación de valor en cascada; 4) el potencial de la bioeconomía para promover el mejoramiento en la nutrición y en la salud; y 5) el aporte de las prácticas agronómicas y tecnologías de la bioeconomía para impulsar la sostenibilidad ambiental y la resiliencia climática.

Por último, culmina analizando la agenda de políticas, estrategias, proyectos e inversiones que se requieren para no solo viabilizar los nuevos negocios de la

bioeconomía, sino también asegurar que estos se darán en un marco de seguridad y sostenibilidad.

Bosques del siglo XXI: Hacia una economía circular en el ámbito forestal

Moncaleán, Paloma.

NEIKER-BRTA. Centro de Arkaute. Apdo. 46. 01080 Vitoria-Gasteiz. España.
pmoncalean@neiker.eus

Debido al aumento de la población humana, a la creciente demanda mundial de madera y a los efectos derivados del cambio climático, el consumo está superando la tasa natural de regeneración en muchas áreas (Fenning y Gershenzon 2002). Por ello, es necesario enriquecer los programas tradicionales de mejora con herramientas biotecnológicas capaces de incrementar la cantidad y calidad de las plantas forestales producidas. La definición de biotecnología forestal de la FAO abarca diferentes técnicas para la clonación de árboles forestales. Usando tecnologías in vitro, la organogénesis generalmente se restringe a la plántula joven como fuente de explante (Bonga 2017). En nuestro equipo, tras desarrollar

técnicas organogénicas tanto con material juvenil (Moncaleán et al. 2005; De Diego et al. 2011; Montalbán et al. 2011) como con material adulto (De Diego et al., 2008; 2010; 2010b; Montalbán et al. 2013) comenzamos a desarrollar y optimizar procedimientos de embriogénesis somática en *Pinus* spp. La embriogénesis somática es una vía de desarrollo fascinante a través de la cual las plantas pueden regenerarse a partir de estructuras bipolares derivadas de una o unas pocas células somáticas que fue descrita por primera vez hace más de 50 años en zanahoria por Reinert (1958) y Steward et al. (1958). Actualmente, el reto de varias empresas y centros de investigación del mundo es lograr la automatización de la producción de planta forestal. Así, se han desarrollado sistemas para la producción de embriones en biorreactores así como para la selección y clasificación de aquellos que son óptimos para ser transferidos a la fase de germinación (Swee Tree Technologies, <https://swetree.com>). Además, empresas como Weyerhaeuser (<https://www.weyerhaeuser.com>) han desarrollado la alternativa a las antiguas semillas artificiales, lo que se denominan semillas manufacturadas. Esto consiste en introducir un embrión somático en un megagametofito artificial que la protege de patógenos y depredadores en el campo y puede ser sembrada directamente, aumentando notablemente el porcentaje de supervivencia. Todas estas metodologías están realizadas de forma automatizada lo que abre la puerta a la robótica en el mundo de la producción de plantas élite.

Dentro del proyecto MULTIFOREVER se están tratando de desarrollar estas tecnologías de automatización para varias especies de pino de importancia en Europa.

Agradecimientos: Nuestros trabajos se realizan gracias a la financiación obtenida del Gobierno de España (MINECO, AGL2016-76143-C4-3R), Gobierno Vasco (DECO), Programa iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo (BIOALI-CYTED P117RT0522) Y MULTIFOREVER (Forest Value, ERANET program, EU). Project MULTIFOREVER is supported under the umbrella of ERANET Cofund ForestValue by ANR (FR), FNR (DE), MINCyT (AR), MINECO-AEI (ES), MMM (FI) and VINNOVA (SE). ForestValue has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No. 773324.

Ecosistema de Biotecnología Industrial del Ecuador: retos y oportunidades para una circularización económica.

Sanchez Rodríguez, Aminaël

UTPL, Ecuador

En 2020, la Alianza para el Emprendimiento y la Innovación de Ecuador lanzó con el apoyo de Naciones Unidas y otros aliados estratégicos, la iniciativa Reinventa Ecuador que busca reactivar la economía a través de iniciativas que generen al menos USD 5 000 millones en los próximos 10 años. Otros de sus objetivos son promover la competitividad alrededor de ecosistemas priorizados, promover al ecosistema de emprendimiento e innovación en el Ecuador al 2030 y generar impacto sostenible en el país. Uno de los ecosistemas priorizados por esta iniciativa es el de Biotecnología Industrial que persigue nuclear soluciones eficientes y escalables para agregar valor a las más de 800 mil toneladas de residuos agroindustriales que se generan anualmente en Ecuador. A pesar del potencial impacto que tendría el desarrollo de la Biotecnología Industrial en Ecuador, el avance de lo que aún es un germen de iniciativa país ha encontrado múltiples brechas que deben ser cubiertas primero si se desea generar un impacto económico real. Las brechas identificadas cubren los dominios de Mercado, Cultura, Legislación e Inversión y unos de los aspectos que más destaca entre estas es lo poco alineada que está la investigación académica en Biotecnología con los problemas reales del mercado en Ecuador. En esta charla el Dr. Aminaël Sánchez vocero del ecosistema de Biotecnología Industrial del Ecuador y CEO de SILICOCHEM CIA. LTDA, la primera iniciativa escalable de Biotecnología del país, nos guía a través de visión para hacer de Ecuador un polo biotecnológico en los próximos 10 años.



Resúmenes de trabajos científicos





Biotecnología Animal

Biotecnología Animal

BA1. Efecto del ácido alfa lipoico sobre el desarrollo preimplantacional bovino y la calidad embrionaria *in vitro*

Fabra, M.*; Anchordoquy, J.M.; Anchordoquy, J.P.; Carranza, A.; Furnus, C.; Nikoloff, N.

Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando N Dulout", IGEVET (UNLP-CONICET-CONICET LA PLATA), Facultad de Ciencias Veterinarias - UNLP, Calle 60 118, B1904AMA La Plata, Buenos Aires, Argentina. *maricfabra@gmail.com

El desarrollo embrionario preimplantacional *in vitro* en mamíferos incluye tres etapas consecutivas: maduración *in vitro* (MIV), fecundación *in vitro* (FIV), y cultivo *in vitro* (CIV), y está influenciado por diversos factores relacionados a las condiciones del cultivo y sus componentes. El sistema de producción de energía del embrión genera especies reactivas del oxígeno (ERO), sensiblemente controladas por un balance del estado de óxido-reducción. Sin embargo, frente a un desequilibrio, la producción de ERO puede aumentar ocasionando estrés oxidativo. Las consecuencias en el embrión son varias (daño en el ADN, bloqueo embrionario, apoptosis, entre otras). El ácido alfa lipóico (AAL) es sintetizado a partir del ácido octanóico y distintas fuentes de azufre, y es conocida su actividad antioxidante tanto *in vivo* como *in vitro*. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de AAL suplementado durante el CIV en el desarrollo embrionario temprano y la calidad de blastocistos bovinos. Para tal fin, se utilizaron ovocitos obtenidos a partir de ovarios de frigorífico, los cuales se sometieron a los procesos de MIV, FIV y CIV consecutivamente en una atmósfera gaseada con 5 % CO₂ a 39 °C y humedad a saturación, empleando baja tensión de oxígeno (7 %) durante el cultivo. El medio CIV fue suplementado con AAL. Los tratamientos fueron: control 0 µM AAL, 2,5, 5 y 7,5µM AAL. Se obtuvieron un total de 298 embriones en Día 8 de desarrollo. Se evaluaron tasa de clivaje 48 hs post FIV, blastocistos al Día 6, 7 y 8 y hatching. Además, se evaluó el número total de células en blastocistos Día 8 con Hoesch 33342, y blastómeras apoptóticas mediante ensayo TUNEL. Los datos fueron analizados mediante el software GLIMIX (SAS Institute). Nuestros

resultados indican que no hubo diferencias significativas en tasa de clivaje ni tasa de blastocistos ($P > 0.05$). La tasa de hatching disminuyó con el tratamiento de 7,5 μM AAL respecto al control ($P < 0.05$). El número de blastómeras fue significativamente mayor en 2,5 μM AAL en comparación con el resto de los tratamientos ($P < 0.05$). No hubo diferencias significativas en la tasa de apoptosis entre tratamientos ($P > 0.05$). Estos estudios constituyen el primer antecedente de evaluación del efecto de AAL en el medio CIV de embriones bovinos. El efecto benéfico de AAL dependería de la concentración usada. La concentración de 2,5 μM AAL podría ser mejoradora de la calidad embrionaria en bovinos. Sin embargo, se necesitan más estudios para corroborar esta hipótesis. Este trabajo refuerza la necesidad de emplear antioxidantes en el medio de CIV como un factor beneficioso en el desarrollo embrionario *in vitro* de embriones bovinos.

BA2. Plataforma de suplementación de oligonutrientes para aplicación en medicina veterinaria.

Arese, R.P. (1)[#]; Sanabria, R. (1)[#]; Rafti, M. (2); Azzaroni, O. (2); Cabrerizo, F.M.(1); Ruiz, O.A. (1)*.

(1) Instituto Tecnológico de Chascomús, Universidad Nacional de San Martín – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (INTECh UNSAM-CONICET). (2) Universidad Nacional de La Plata, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (UNLP, CONICET). [#]Ambos deben ser considerados primeros autores.

* ruiz@intech.gov.ar

El cobre (Cu) es un micromineral indispensable para la realización de ciertas funciones fisiológicas. Principalmente es utilizado como cofactor enzimático, siendo las más importantes ceruloplasmina, superóxido dismutasa, tirosinasa y monoamino oxidasa. Existen en Argentina regiones donde la deficiencia de Cu se presenta en forma enzoótica para el ganado, vinculada a sistemas de producción mayormente extensivos. Se han documentado hipocuprosis en bovinos en Chaco, Formosa, Entre Ríos, y Buenos Aires, siendo la segunda carencia mineral en

importancia para rodeos de cría. La consecuencia para los bovinos se relaciona fundamentalmente con la depleción del sistema antioxidante, siendo las categorías en crecimiento las más susceptibles. La hipocuprosis repercute en deficiencias del sistema inmunológico, la predisposición a enfermedades, e incluso retraso en el desarrollo y fertilidad. Se han documentado reducciones de peso en animales con este trastorno, respecto a animales normocuprémicos. Dado que la deficiencia de Cu en los suelos, o el exceso de iones que interfieren en la absorción no puede modificarse, la práctica más común es la suplementación inyectable (suministrado como una sal simple de pobre poder de resuspensión y con problemas para la administración eficiente por parte de los trabajadores rurales). Aunque mucho se ha avanzado en los últimos años, en lo que respecta a estabilidad de las formulaciones de Cu para administración parenteral, los suplementos presentan, en general, una ventana terapéutica estrecha ya que una dosis doble puede ser letal. La suplementación parenteral de Cu es la alternativa de elección cuando no es posible su aporte continuo. Esta alternativa tiene fundamento debido a que el Cu inyectado es depositado como reserva orgánica en el hígado. La solución alternativa propuesta se basa en el desarrollo de un nanomaterial conteniendo Cu, que, por un mecanismo de liberación lenta, provee ventajas comparativas con respecto a la suplementación actualmente en uso. Es un nano-material poroso que facilita la liberación controlada del oligoelemento. Las ventajas principales del producto presentado sobre la tecnología actualmente en uso son: i) alto grado de reproducibilidad de la dosis y facilidad de aplicación en el campo, ii) bajo nivel de toxicidad en la aplicación y reducción del riesgo para el animal por sobredosis, iii) cinética de liberación más lenta que los tratamientos de suplementación con Cu actuales, con lo que se mejora el desempeño en el mediano/largo plazo, y vi) da fundamento a otros productos que, basados en similar tecnología, puedan incorporar otros oligoelementos que requieran de una liberación gradual.

BA3. Impacto de la nueva vacuna a subunidad direccionada contra el VDVB en un tambo con problemas reproductivos

Bellido, D* (1,2); Tibaldo Rubiolo, F (2); Sueldo, P (2); Baztarrica, J (1,2); Wigdorovitz, A. (1,3)

(1) Bioinnovo SA, Argentina. (2) Vetanco SA, Argentina.(3) Incuinta, IVIT – INTA, CONICET, Argentina. *dbellido@vetanco.com

En el año 2018 se lanzó al mercado la primera vacuna a subunidad direccionada del mundo contra el virus de la diarrea viral bovina (VDVB) llamada Vedevax Block. La misma se basa en la fusión de la glicoproteína E2 del VDVB con un anticuerpo de simple cadena que tiene afinidad por las células presentadoras de antígeno del sistema inmune (APCH). El antígeno APCH-E2 es expresado en células de insecto utilizando el sistema de baculovirus recombinante. Esta nueva vacuna combina la potencia de las vacunas atenuadas con la seguridad de las vacunas inactivadas.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en un tambo luego de la introducción de esta novedosa vacuna. El trabajo se desarrolló en conjunto con una firma que tiene cuatro tambos en el departamento de Las Colonias, provincia de Santa Fe, Argentina. La vacuna direccionada se incorporó en el establecimiento que peor performance reproductiva presentaba (30% abortos y 26% de tasa de concepción en 2018), quedando los otros tres tambos de la firma como controles. Los cuatro tambos comparten el plan sanitario, la alimentación, la zona geográfica y los distintos factores de manejo. Los datos reproductivos de los establecimientos se cargan en el sistema DairyComp. La vacuna direccionada se aplicó a todos los animales mayores de un año (N=1143) del establecimiento tratado en diciembre 2018 con un intervalo de 30 días. Luego de la vacunación se llevó el registro de los índices reproductivos, se evaluó la tasa de concepción (vacas preñadas/vacas inseminadas) los abortos y las pajuelas por preñez (pajuelas utilizadas/preñeces logradas). Por último, utilizando los datos previamente mencionados y mediante una fórmula matemática, se calculó la variación en los días abiertos. Los días abiertos son un parámetro muy utilizado en el tambo, ya que engloban la totalidad de los parámetros reproductivos.

En el tambo tratado se observó una mejora en la tasa de concepción que pasó del 26% al 28%, una disminución significativa en el porcentaje de abortos, que pasó

de un 30% en el 2018 al 22% en 2019 y una disminución de las pajuelas por preñez que pasaron de 3,8 a 3,5. Los días abiertos también se redujeron, ya que pasaron de 161 en el 2018 a 153 en 2019.

En ninguno de los otros tres tambos del ensayo se observó una mejora en los índices reproductivos, algo que se evidencia también en los días abiertos: Tambo 1 y Tambo 2: 159; Tambo 3: 162 y Tambo tratado: 153 días abiertos en 2019. De esta manera el tambo tratado que era el que mayor cantidad de días abiertos presentó en 2018 (161), pasó a ser el de menor cantidad de días abiertos luego de la introducción de la vacuna direccionada (153)

Al hacer un análisis global de la situación se puede concluir que la introducción de la vacuna direccionada contra el VDVB tuvo un impacto positivo en el tambo tratado, aumentado la tasa de concepción y disminuyendo los abortos, lo que repercutió también en la disminución de los días abiertos.

BA4. Generación de deleciones en GGTA1 en embriones porcinos asistida por CRISPR-Cas9 como ADN o como complejo (proteína y ARN)

La Motta, G. (1); Briski, O. (1); Ratner, L. (1,2); Salamone, D. (1); Fernandez-Martin, R. (1,2)*

(1) Laboratorio de Biotecnología Animal (LABBA) Facultad de Agronomía UBA, Argentina. (1) Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA) UBA-CONICET, Argentina. (2) NewOrgans Biotech SA, Argentina.

*martinf@agro.uba.ar

La aparición de CRISPR-Cas9, una herramienta molecular que facilita introducir varias modificaciones genéticas en simultáneo, ha permitido el resurgimiento de la idea del xenotrasplante como solución para los pacientes en las crecientes listas de espera. Por sus similitudes fisiológicas y facilidades de manejo, el cerdo es el donante elegido. Sin embargo, se requieren varias modificaciones en su genoma para evitar el rechazo inmunológico implicado. El primer paso es la interrupción del gen α -1,3-galactosiltransferasa (GGTA1), cuya actividad coloca residuos de galactosa en las superficies de las células porcinas. Estos residuos, ausentes en células humanas, son los principales responsables del rechazo hiperagudo, ya

que están presentes en bacterias con las que convivimos, por lo que tenemos anticuerpos preformados. En este ensayo comparamos la eficiencia de edición del sistema CRISPR-Cas9 introducido como plásmidos (grupo ADN), o como complejo ribonucleoproteico (grupo RNP) en embriones porcinos partenogénicos. Se diseñaron 2 guías con el programa online Breaking-Cas, sobre la secuencia del gen GGTA1 que codifica el dominio catalítico de la enzima. Los guías se clonaron en los plásmidos pU6-sgRNA (Addgene #49045) y pT7-sgRNA (#51132) bajo los promotores U6 y T7, respectivamente, según sea para el uso de plásmidos (junto con pCMVCas9 #44758) o complejo RNP (con la proteína Cas9 NEB M0646T). Para generar el complejo, se realizó una síntesis *in vitro* del ARN. La actividad del complejo fue testada *in vitro*. Para una rápida y económica detección de la interrupción del gen, utilizamos la técnica de *dropout knock-out*, donde se utilizan dos guías para inducir la delección del segmento interno. Aunque con este sistema se subestima la tasa de edición de los guías, ya que no se registran cortes individuales o asincrónicos, se puede detectar la delección en un gel de agarosa por una diferencia de movilidad de amplicones. La herramienta CRISPR-Cas9 fue microinyectada en oocitos activados partenogénicamente, que se cultivaron *in vitro* durante 7 días a 38°C y una atmósfera de 5% de CO₂, 5% de O₂ y 90% N₂. Los blastocistos fueron tratados con proteinasa K y SDS, y sometidos a dos PCR anidadas. Los productos fueron resueltos en geles de agarosa al 2%. El amplicón sin delección da un fragmento de 794 pb, y con delección de 326 pb. Se observó una diferencia significativa ($p=0,005$; $p<0,05$) entre el grupo ADN (9,52%; 2/21 embriones con delección) y el grupo RNP (52,6%; 10/19). Además, tal como se mencionó antes, existen otros eventos de edición cuyos cambios no son detectables con el método utilizado, de los cuales, algunos se detectaron por cambio de movilidad de heteroduplex en geles de poliacrilamida. Estos resultados indicarían que la utilización de la herramienta CRISPR-Cas9 como complejo RNP directamente en cigotos porcinos sería una opción más eficiente que su utilización como plásmidos, para la obtención de cerdos genéticamente modificados para xenotrasplantes.

BA5. Análisis de Bloques de Homocigosidad en cabras lecheras españolas para estimar la endocría a nivel genómico

Ziegler, T.E. (1); Molina, A. (2); Demyda Peyras, S. (3,4)*.

(1) Instituto de Genética Veterinaria IGEVET Av. 60 y 118 s/n, (1900) Buenos Aires, Argentina. (2) Departamento de genética, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales Ctra, Madrid-Cádiz, km 396, 14071 Córdoba, España. (3) Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. Av. 60 y 118 s/n, (1900) Buenos Aires, Argentina. (4) CONICET, CCT-La Plata, La Plata 1900, Argentina. *sdemyda@fcv.unlp.edu.ar

Los ROH (bloques de homocigosidad) son regiones del genoma de longitud dada que se encuentran en homocigosis. Su análisis mediante SNP-arrays es actualmente la técnica de elección para evaluar los niveles de endogamia de individuos y poblaciones, permitiendo además descifrar la historia y los procesos adaptativos y selectivos a los que fueron sometidos las poblaciones en estudio. Sin embargo su uso en cabras es aún incipiente.

El presente estudio analiza 174 cabras españolas (87 hembras y 87 machos) pertenecientes a la raza Florida que han sido genotipadas mediante el Illumina GoatSNP50 BeadChip (55,000 marcadores). Posteriormente se determinaron los ROH existentes en cada individuo con el paquete “DetectRUNS en el entorno estadístico R. Los animales fueron separados por sexo (2 niveles) y longitud (4 niveles) y comparados mediante pruebas estadísticas específicas.

El análisis general (sin tener en cuenta el largo) no demostró diferencias entre los sexos. Similares resultados se obtuvieron cuando se compararon los diferentes largos de ROH analizados: ROH 1-2Mb; ROH 2-4Mb; ROH 4-8Mb y ROH >8Mb. Estos resultados sugieren que no existen diferencias en la presión de selección entre sexos en términos de endogamia ancestral (ROH cortos) y reciente (ROH largos).

Sin embargo, el análisis de la incidencia y ubicación de ROH a nivel cromosómico (determinación de islas de ROHP) permitió determinar la existencia de diferencias entre ambos sexos. Si bien ambos grupos presentan un marcado pico en el cual la endogamia se concentran en el cromosoma 6, Este es mucho más marcado en el grupo de las hembras., Por el contrario, los machos presentan picos de endogamia más pronunciados en los cromosomas 1, 12, 22, 24 y 28.

Si bien este es un análisis preliminar, la existencia de regiones diferencialmente afectadas por la endogamia entre machos y hembras pertenecientes a un mismo programa de cría sugiere la existencia de presiones de selección que pueden ser ligeramente divergentes entre ambos grupos.

La profundización de este tipo de análisis, combinados con la determinación funcional de las regiones afectadas por la endogamia en la raza podrán determinar de manera más fehaciente las causas y posibles consecuencias de nuestros hallazgos.



Bioeconomía y Comunicación

Bioeconomía y Comunicación

BC1. El desafío de salir de la “zona de confort” para comunicar biotecnología: la experiencia de ArgenBio a través del proyecto Infoalimentos

Durand, V.F.*; Zapiola, M.L.; Levitus, G.

Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología, ArgenBio. *vdurand@argenbio.org

Comunicar ciencia en general y biotecnología en particular cobra especial relevancia por el hecho de que una persona correctamente informada sobre estos temas tiene más y mejores herramientas para tomar decisiones en cuanto a su salud y alimentación. Pero ¿cómo hacerlo si el público general es lego en este tema, no tiene interés o está fuera de los ámbitos científicos? ArgenBio encontró una forma de llegar a nuevas audiencias a través del proyecto Infoalimentos. El proyecto se basa en cuatro pilares: contexto, red, credibilidad y diálogo. A la hora de comunicar un contenido técnico-científico, la elección de un contexto familiar, cercano a la vida cotidiana y fuera de los círculos académicos y de especialistas, capta mejor la atención de las personas, las involucra emocionalmente y permite que dicho contenido tenga más penetración y alcance. Es por eso que Infoalimentos comunica biotecnología insertándola en un contexto familiar con el cual todas las personas se identifican en mayor o menor medida: la producción de alimentos del campo a la mesa, la inocuidad de los alimentos, la cocina, la salud y la nutrición. Con el fin de abordar estos temas, se convocó a otras instituciones para comunicar en conjunto. Así, conformamos el Consejo Argentino sobre Seguridad de Alimentos y Nutrición (cuyo nombre de fantasía es Infoalimentos) sumando a ICCAS (Instituto para la Cooperación Científica en Ambiente y Salud) y Fundación Barceló. La resultante es un trabajo en red con especialistas en medicina, nutrición, agronomía, bromatología, cocina y tecnología alimentaria. La incorporación de estos especialistas con el potencial de amplificar el mensaje a públicos nuevos (pacientes, colegas, fabricantes de alimentos, comensales en un

restaurante, chefs, etc.) es una de las claves para salir de la zona de confort, abrir nuevos canales de comunicación y sostener el tercer pilar del proyecto: la credibilidad, otorgada por la veracidad de una voz especializada y autorizada. La credibilidad genera confianza, con confianza hay escucha y si el público escucha, el mensaje llega. Finalmente, ante el desafío de comunicar temas sensibles como salud y alimentos, en un contexto donde predomina la polarización, el intrusismo, la desinformación, los movimientos anti-ciencia y anti-tecnología y con consumidores exigentes que interpelan a los productores de alimentos, Infoalimentos propone el diálogo basado en escuchar para responder empáticamente las preguntas de la gente. Infoalimentos tuvo varios logros: publicó un libro, realizó 2 foros de comunicación de la ciencia, tiene dos redes sociales con casi 10.000 seguidores en Twitter y más de 31.000 en Facebook y consolidó su sitio web con más de 380 artículos originales y un crecimiento sostenido que conduciría a alcanzar en 2021 el millón de visitas. La biotecnología es un ingrediente que nunca falta en nuestro menú y la tarea de Infoalimentos es mostrar el recorrido de los alimentos del laboratorio, al campo y al plato.

BC2. Los desafíos de comunicar sobre edición génica de plantas: lecciones aprendidas

Zapiola, M.L.*; Durand, V.F.; Levitus, G.

Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología, ArgenBio, Argentina. *mlzapiola@argenbio.org

Cada vez que aparece una tecnología novedosa, despierta interés, pero también temor. El desafío es comunicar claramente para que se entienda y comprenda la tecnología y los avances que implica. Con los organismos genéticamente modificados (OGM) en general y los cultivos transgénicos, en particular, hubo un período importante en que no se comunicó claramente. Mientras algunos hablábamos de cultivos genéticamente modificados o cultivos mejorados por biotecnología, otros hablaban de transgénicos y Frankenfood. Surgieron mitos, y temores que se instalaron en la opinión pública. Ahora estamos frente al desafío de comunicar sobre edición génica y lograr un impacto positivo de entrada. En los

años que venimos hablando de este tema, algunas de las preguntas que surgen del público son: ¿La edición génica es lo mismo que la transgénesis? ¿Va a reemplazar a la transgénesis? ¿Cuándo se usa una u otra? ¿Se controla? ¿Se regula? ¿Cualquiera puede editar un cultivo? A través de talleres y otras actividades de ArgenBio hemos aprendido e identificado algunos puntos que nos ayudan en la comunicación sobre edición génica de plantas. En primer lugar, aprendimos que es fundamental comunicar estos desarrollos en el contexto del mejoramiento de los cultivos y de los cambios que se producen en los genomas a lo largo del mejoramiento y la evolución. En este contexto, la edición génica es una herramienta más que se suma a la caja de herramientas del fitomejorador y, en general, no viene a reemplazar a otras herramientas, sino a sumar, ofreciendo sobre todo precisión. No es mejor ni peor que otras tecnologías, ya que cada tecnología tiene sus ventajas, limitaciones y aplicaciones específicas. Por su enorme potencial, la edición génica nos entusiasma y maravilla, pero sabemos que ninguna tecnología revoluciona o cambia el mundo, por eso es importante no exagerar en lo que contamos para evitar generar falsas expectativas. Hay gente que cree que la edición génica se podría hacer en casa, y esto para muchos puede resultar aterrador. Por eso es importante contar que, por más que estas técnicas pueden ser más simples que otras herramientas, no son “técnicas de garaje”, por todos los conocimientos e infraestructura que requieren. No menos importante, los cultivos logrados mediante edición génica, se controlan y regulan, como cualquier producto del mejoramiento convencional. Finalmente, sabemos que es clave comunicar de manera clara y sencilla a un público general preocupado y al mismo tiempo bombardeado de información y “fake news”. Afortunadamente, el Premio Nobel otorgado a Emmanuelle Charpentier y Jennifer A. Doudna en 2020 es una excelente oportunidad para transmitir el valor y potencial de esta tecnología. En este sentido, cada uno de nosotros somos comunicadores en potencia para transmitir el valor y potencial de los avances científicos, como la edición génica.

BC3. La biotecnología como herramienta social

Escandón, A.S. (1)*; Sharry, S.E. (2); Preindl, M.A. (3).

(1) Instituto de Genética Ewald A. Favret (CICVyA-CNIA-INTA). (2) Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP-LIMAD)-UNRN-Viedma-CICPBA. (3) Municipalidad de José C. Paz. *escandon.alejandro@inta.gob.ar

Se define como una “Biofábrica” al laboratorio de cultivo de tejidos con capacidad de producir, en forma masiva y con un protocolo establecido, una especie vegetal dada. Es importante tener en cuenta que el procedimiento completo de producción, no sólo incluye el sector de laboratorio, sino que también involucra el desarrollo en el sector de invernáculos. Esto es, el proceso completo desde que se introducen los inóculos *in vitro* hasta que se entrega el plantín al interesado.

Esta vía de producción ya fue largamente probada como eficiente; de hecho, más de 1.000 especies vegetales pueden ser micropropagadas y multiplicadas por este sistema, en especial aquellas involucradas en el cultivo intensivo (ornamentales, hortícolas y frutales) incluso extensivos como la caña de azúcar y forestales.

Como herramienta biotecnológica, la inmersión temporaria, es de gran utilidad y dada su naturaleza práctica, permite generar resultados de impacto social directo e inmediato. Como ejemplo podemos citar el proyecto COFECyT de Bioeconomías Regionales (PEBIO-R 2016): INSTALACIÓN Y PUESTA EN FUNCIONAMIENTO DE UN MÓDULO PILOTO DE BIOFÁBRICA PARA LA PRODUCCIÓN DE PLANTINES PARA EL PARQUIZADO PÚBLICO, cuyo objetivo consiste en montar módulos de biorreactores de inmersión temporaria de bajo costo, con la finalidad de multiplicar árboles para su uso tanto en parques como viarios. La estrategia propuesta, dinámica y flexible, permitirá incrementar el número de módulos de producción de acuerdo a la demanda, incorporando nuevas unidades de biorreactores para, eventualmente, aumentar la producción de una especie dada o bien incorporar una nueva al sistema de producción.

En el proyecto están involucrados el Municipio de José C. Paz, la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCAyF-UNLP) y el Instituto de Genética Ewald A Favret (CNIA-INTA).

Hasta el momento se ha logrado, a pesar de la pandemia, que tanto la Municipalidad como la Facultad avancen en el acondicionamiento de sus respectivos laboratorios. En el INTA se ha realizado un entrenamiento en cultivo *in vitro* para el personal de la Municipalidad y de la FCAyF asignado al proyecto y se logró instalar el primer prototipo de biorreactor en el IGEAF para su posterior puesta a punto.

El alcance de los objetivos del proyecto permitirá proveer de material vegetal, en especial de especies autóctonas, a los viveros municipales y eventualmente a cooperativas de productores del cinturón verde del AMBA, lo que generará la demanda de mano de obra en las zonas de influencia, además del impacto positivo, tanto social como ecológico, que implica la forestación de espacios urbanos. Asimismo, la propuesta incluye, por parte de José C. Paz la construcción de un laboratorio-exposición, con amplios ventanales, para que pueda ser visitado por las escuelas de la zona, con el objetivo de acercar a los alumnos a las tecnologías de punta.

BC4. Residuos lignocelulósicos de México y su potencial aplicación en la producción de etanol

Zarco Hidario, Y. (1); Perez-Cadena, R. (1); Campos, E. (2)*; Montiel, C. (3).

(1) Ingeniería en Energía, Universidad Politécnica Metropolitana de Hidalgo, Boulevard Acceso a Tolcayuca No. 1009, ExHacienda de San Javier, C.P. 43860, Tolcayuca, Hidalgo, México. (2) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Buenos Aires. (3) Facultad de Química UNAM, Ciudad de México, México. *campos.eleonora@inta.gob.ar

El incremento mundial en la demanda energética ha estimulado la búsqueda de fuentes alternas renovables de energía, como son los biocombustibles. El bioetanol es un ejemplo de dichos combustibles. El bioetanol es producido a partir de la fermentación de los azúcares que provienen de biomasa vegetal. La

procedencia de los azúcares determina el tipo de producción, o generación, del bioetanol. Esto es, cuando provienen del almidón contenido principalmente en el grano de maíz o de la sacarosa proveniente de la caña de azúcar, se habla de etanol de primera generación. En cambio, cuando provienen de la sacarificación de los polisacáridos de la pared celular vegetal, rica en lignocelulosa, se dice que es etanol de segunda generación o etanol celulósico.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar tres residuos lignocelulósicos en México, bagazo de agave, rastrojo de maíz y bagazo de caña de azúcar, para su potencial aplicación en la producción de bioetanol de segunda generación. Para ello se analizó la distribución a nivel nacional de cada tipo de biomasa seleccionada. Posteriormente se analizó la composición, en cuanto a celulosa, hemicelulosa y lignina, y la disponibilidad de cada residuo en base a la producción anual y los usos actuales. Se analizaron los posibles procesos de conversión de dicha materia a etanol y se calculó el rendimiento teórico en la producción de bioetanol, estimando un rendimiento de sacarificación de la celulosa (conversión a glucosa) del 80% y utilizando un factor de conversión teórico de 0.51 gramos de etanol por cada gramo de glucosa obtenida.

A partir de los resultados obtenidos de este análisis se encontró que México tiene gran potencial para ser productor de etanol de segunda generación, debido a que cuenta con aproximadamente 5 millones de toneladas de residuo lignocelulósico (producido por las tres biomásas seleccionadas) que no se aprovechan y que podrían ser utilizados en la obtención de etanol. Adicionalmente, se observó que la producción de bioetanol a partir del bagazo de caña de azúcar sería la mayor, seguido por el rastrojo de maíz y finalmente el bagazo de agave. No obstante, una gran ventaja que se encontró en la producción de etanol a partir de bagazo de agave, es su bajo contenido de lignina (15%), en comparación al bagazo de caña de azúcar (25%) y al rastrojo de maíz (22%), lo que podría mejorar el rendimiento en la sacarificación. Al analizar la conversión de azúcares fermentables a etanol se estimó que, a partir de la producción antes mencionada, México podría producir 834 mil toneladas de etanol de segunda generación por año. Dicha producción aportaría además un beneficio ambiental, disminuyendo la contaminación que se llega a producir, en caso de no realizarse el manejo adecuado de los residuos. Asimismo, ofrecería a los agricultores un valor agregado al residuo y la generación

de fuentes de trabajo, siendo esta de gran importancia en el sector agrícola en México.

BC5. ¿Cuidamos lo que logramos con la biotecnología?

Reichert, A.S. (1); Pérez, D.O. (1,2); Balbi, C.N. (1)*.

(1) Facultad de Ciencias Agrarias, UNNE. (2) AAPRESID.

*cnbalbi@agr.unne.edu.ar

Desde la liberación del primer maíz transgénico se han inscripto diversos materiales con eventos resistentes a lepidópteros. El uso de refugio es la práctica más recomendada para proteger la biotecnología, a pesar de ello, se han reportado quiebres y fallas a campo de los eventos. En la campaña 2019/2020 se llevó a cabo un relevamiento a través de encuestas a 60 productores del noreste argentino (NEA), sobre uso de cultivos de refugio en maíz. Los productores fueron un 62% de Chaco, 16% de Corrientes, 13% de Formosa, 6% del norte de Santa fe y 3% de Misiones. Se estratificaron por superficie, todos ellos realizan siembras tardías de enero y del total solo la mitad producen además maíz temprano. Solo un 71,7% de los productores contestó que realiza refugio, de ellos un 53% destina lotes de menos del 10% de la superficie total, o sea menos de lo recomendado. Respecto de las justificaciones por no usar esta buena práctica agrícola (BPA), el 55,5% alegó no hacerlo por la disminución en la renta que le genera, 27,8% por problemas en el calibre de las semillas y un 16,7% a la dificultad de manejo del lote refugio. De los encuestados que realizan refugio un 97% lo monitorea y de ellos solo la mitad utiliza para hacerlo la escala Davis. El manejo con insecticidas de ser necesario lo realizan en etapas tempranas con diferentes principios activos no todos recomendados como BPA en refugio por su residualidad. Estos resultados abren un amplio debate de estrategias de comunicación eficiente con el 28,3% de productores que no realiza refugio, sobre todo en este momento donde se insertan nuevos eventos. Este trabajo mostró, que respecto de otras encuestas anteriores en el NEA, ha aumentado el uso de esta BPA recomendada para cuidar lo logrado con la biotecnología Bt, lo cual muestra un futuro promisorio al respecto. Por otro lado, resulta imprescindible generar espacios de

comunicación y concientización del cuidado de la biotecnología para no desandar caminos recorridos.

BC6. Edición génica: evolución en el tratamiento regulatorio

Goberna, F.; Simeone, F.; Whelan, A.; Godoy, P.; Lewi, D.*

Dirección Nacional de Bioeconomía, Secretaría de Alimentos, Bioeconomía y Desarrollo Regional, MAGyP. *dlewi@magyp.gob.ar

En 2015 Argentina fue el primer país en generar una normativa específica para el análisis de los productos derivados de las nuevas técnicas de mejoramiento genético. Luego, otros países como Chile, Brasil, Paraguay elaboraron sus normativas con criterios similares y más tarde, Colombia, Ecuador, Guatemala y Honduras, consolidándose la adopción de estas tecnologías en gran parte de Latinoamérica. Japón e Israel también cuentan con normativas vigentes.

Contar con un procedimiento que permita conocer con anticipación el estatus regulatorio de un producto basada en la definición de OGM según el Protocolo de Cartagena, generó predictibilidad en los desarrolladores locales. Luego de 6 años en CONABIA, este año se actualizó y mejoró la normativa para facilitar a los desarrolladores a presentar sus productos en etapa de diseño o una vez obtenidos.

La Unión Europea aún debate si los productos de la edición génica deberían ser regulados como OGM. El 29 de abril se conoció un estudio arrojando conclusiones favorables para estas tecnologías, en sintonía con los enfoques de Argentina y otros países.

Hay muchos espacios internacionales de discusión donde Argentina participa activamente. Argentina, junto con otros países, participó en la formulación de dos declaraciones internacionales: en 2018, la Declaración Internacional a favor de las aplicaciones agrícolas de la biotecnología de precisión y en 2019 la Declaración del CAS en la OMC a favor de las técnicas de edición génica.

Para que estas tecnologías puedan ser adoptadas convenientemente aún deben realizarse esfuerzos tanto en los diálogos internacionales como en generar capacitaciones y correcta difusión.

BC7. Una segunda oportunidad para los residuos vitivinícolas locales: recuperación de compuestos antioxidantes del orujo de uva

Moron Rivera, M. (1,2)*; Hoffmann, E. (1,2); Boeri, P. (1,2); Piñuel, L. (1,2).

(1) Universidad Nacional de Río Negro, Viedma, Río Negro, Argentina. (2) CIT-Río Negro, Sede Atlántica, Viedma, Río Negro, Argentina. *mjmoron@unrn.edu.ar

Actualmente, el diseño de métodos de extracción integrales y sostenibles que permitan recuperar moléculas a partir de residuos agroindustriales, ha ganado creciente interés. Muchos de estos subproductos se pueden transformar para producir compuestos con valor agregado, que sirvan de materia prima para diferentes aplicaciones farmacéuticas y alimentarias por sus características bioactivas y tecnológicas. Reutilizar el orujo de la uva, no solo evita que este se acumule y contamine el medio ambiente, sino que es una alternativa viable para una economía circular. El objetivo de este trabajo fue evaluar el potencial del residuo vitivinícola generado por una bodega local, como fuente de compuestos bioactivos para el aprovechamiento del orujo de uva (*Vitis vinífera* L.) y la valorización de la cadena productiva. Para ello, se utilizó orujo de uva proporcionado por la bodega argentina Wapisa Patagonia Atlántica, ubicada en Río Negro, la cual genera aproximadamente 50000 kg/año de desechos. El orujo fue secado a 60°C durante 24 horas y molido para las determinaciones posteriores. La extracción de compuestos fenólicos se realizó aplicando una relación 1:10 sólido-líquido en buffer acetato de Na 0,2 M pH 4,5 con diferentes preparaciones enzimáticas (pectinasa 380 U/g orujo, celulasa 91 U/g orujo y mezcla de ambas). Las muestras se incubaron a 50°C durante 1 y 4 h en agitación, luego se sometieron a un baño de hielo por 15 min para detener la reacción y por último se centrifugaron a 10000 rpm durante 15 min. El sobrenadante se utilizó para cuantificar los polifenoles totales por el método de Folin y evaluar la actividad antioxidante por ABTS y DPPH. Los resultados indicaron que el agregado de enzimas no mejoró la cantidad de polifenoles extraídos y los valores variaron entre 1,6-1,8 gGAE/100 g de harina de orujo, los cuales son superiores a los reportados en la literatura. En relación a la actividad antioxidante, se obtuvieron valores hasta

un 51% mayor que el control, destacándose el extracto obtenido con pectinasas 4 h (37% por ABTS y 44% por DPPH), celulasas 1 h (20% por ABTS) y la mezcla de enzimas 4 h (51% DPPH). En base a estos datos, se concluye que la capacidad antioxidante que poseen los polifenoles recuperados a través de los métodos evaluados, sugieren al orujo de uva como una fuente potencial de compuestos bioactivos. De esta manera, estos podrían ser utilizados en diferentes formulaciones (líquidos, concentrados o en polvo) para el desarrollo de alimentos funcionales y nutraceuticos, lo que suma valor agregado a un proceso productivo local.

BC8. Valorización de subproductos olivícolas mediante la recuperación, purificación y concentración de antioxidantes naturales

Rodríguez, M. (1)*; Cornejo, V. (1); Deiana, C. (2); Giménez, M. (2); Rodríguez-Gutiérrez, G. (3); Monetta, P. (1).

(1) Estación Experimental Agropecuaria San Juan, INTA, Argentina. *rodriguez.manuel@inta.gob.ar (2) Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNSJ, Argentina. (3) Departamento de Fitoquímicos, Instituto de la Grasa, CSIC, España. [*rodriguez.manuel@inta.gob.ar](mailto:rodriguez.manuel@inta.gob.ar)

El aceite de oliva virgen es conocido por sus excelentes cualidades nutraceuticas, en gran medida dadas por la presencia de compuestos antioxidantes de naturaleza fenólica que le aporta el fruto. Debido al carácter mayoritariamente hidrofílico de estos compuestos, durante la extracción del aceite de oliva sólo un 2% pasan al aceite, mientras que el resto queda en el subproducto, denominado alperujo. Los compuestos fenólicos de la aceituna incluyen un inmenso grupo de fenoles simples y complejos, entre los cuales el hidroxitirosol (HT) se destaca por su elevada actividad biológica. Este compuesto se ha descrito como uno de los antioxidantes naturales más potentes, motivo por el cual se han reportado distintas estrategias tendientes a lograr su recuperación, sin embargo, en su mayoría, de difícil implementación a escala industrial. En este sentido, en el presente trabajo se desarrolló, implementó y evaluó un procedimiento para obtener un concentrado de compuestos fenólicos rico en HTa partir de alperujo, utilizando la maquinaria

existente en una planta de extracción de aceite de oliva estándar. El ensayo se realizó en la planta piloto de extracción de aceite de oliva del INTA San Juan. Se recolectó alperujo crudo y se ajustó su humedad al 80%. Mediante la termoamasaadora industrial se aplicaron tratamientos, combinando un nivel de temperatura (70°C), dos tiempos (45 y 90 min) y la presencia o ausencia de H₂SO₄ 0.25%. Todos los ensayos se hicieron por triplicado en lotes de 200 kg. Posteriormente, utilizando el decanter o centrifuga industrial, se recuperó la fracción líquida (FL) y se determinó el contenido de fenoles totales por colorimetría (expresada como ppm de ácido caféico). Por último, a menor escala, se evaluaron tres sistemas de purificación de compuestos fenólicos: Partición líquido/líquido con acetato de etilo, adsorción con resinas iónicas y adsorción con resinas no iónicas. El líquido resultante de los tres sistemas se concentró en rotavapor (60°C) hasta la obtención de un semisólido y se cuantificó el contenido de fenoles totales y el contenido de HT (HPLC-DAD). Los resultados obtenidos indican que luego de la aplicación de los tratamientos térmicos se obtuvieron FL con alto contenido en fenoles totales, 3500 ppm y 4300 ppm en presencia o ausencia de H₂SO₄ respectivamente. En cuanto a la etapa de purificación/concentración, los tres sistemas mostraron distinta efectividad obteniéndose semisólidos con valores de fenoles totales entre 10.000 ppm y 45.000 ppm, con niveles de HT entre el 17% y el 42% de los fenoles totales. En resumen, en el presente trabajo se implementó y evaluó un procedimiento aplicable a escala industrial, mediante el cual a partir de 200 kg de alperujo se obtienen aproximadamente entre 0.3 kg y 0.8 kg de un concentrado rico en fenoles con alta proporción de HT. Indudablemente, la actividad biológica de este concentrado aún debe ser evaluada en profundidad para conocer sus potenciales usos y aplicaciones.

BC9. Evaluación de antioxidantes naturales obtenidos de subproductos olivícolas

Rodríguez, M. (1); Cornejo, V. (1); Deiana, C. (2); Giménez, M. (2); Rodríguez-Gutiérrez, G. (3); Monetta, P. (1)*.

(1) Estación Experimental Agropecuaria San Juan, INTA, Argentina. (2) Instituto de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, UNSJ, Argentina. (3) Departamento de Fitoquímicos, Instituto de la Grasa, CSIC, España. * monetta.pablo@inta.gob.ar

Un antioxidante es una molécula que impide o retarda la oxidación de otra. Los antioxidantes naturales están presentes en gran variedad de frutos, hortalizas, raíces y hojas. En la actualidad los antioxidantes naturales son requeridos para su empleo en alimentos, cosméticos, suplementos dietarios, piensos para producción pecuaria y productos farmacéuticos. Esto se ve reflejado en la gran expansión del mercado mundial de antioxidantes naturales y en la renovada oferta de productos que los incorporan en sus formulaciones. En consecuencia, la extracción o recuperación de antioxidantes naturales, con alto nivel de pureza, elevada actividad biológica y bajo costo representa un desafío en el área de investigación y desarrollo de nuevos productos. La recuperación de antioxidantes naturales a partir de subproductos agroindustriales posee numerosas ventajas de orden práctico y económico en comparación con la recuperación a partir de frutos u otras fuentes naturales, ya que se evitan las etapas de cosecha, recolección, traslado, acondicionamiento y procesamiento de la materia prima. Este es el caso de los antioxidantes naturales recuperados a partir de subproductos olivícolas, los cuales están conformados por un variado grupo de fenoles simples y complejos, entre los que se destaca el hidroxitirosol (HT), por ser considerado como uno de los antioxidantes naturales más potentes reportados. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la actividad biológica de tres concentrados de antioxidantes naturales obtenidos a escala industrial a partir de alperujo, el principal subproducto del proceso de extracción de aceite de oliva. Los concentrados a evaluar presentaban valores de fenoles totales elevados (10.000-40.000ppm) con alta proporción de Hidroxitirosol (HT) (20-40%). Se determinó actividad anti radical por el método DPPH, capacidad antioxidante según el poder reductor del hierro (FRAP) y capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC). Posteriormente, se evaluó la estabilidad oxidativa en condiciones aceleradas (Rancimat) de aceites de maíz conteniendo distintas proporciones de cada concentrado en estudio. Los resultados obtenidos en las determinaciones de

DPPH (1.7 y 2.8 mg/ml), FRAP (0.07 y 0.21 mg/ml TE) y ORAC (3.000 a 6.000 moles Trolox/g) fueron comparables a los resultados reportados para antioxidantes naturales de otros orígenes obtenidos a escala de laboratorio. Adicionalmente, las pruebas de Rancimat indicaron que mediante la adición de cualquiera de los tres concentrados en dosis de 100 y 200ppm de HT fue posible incrementar entre 400% y 2500% la estabilidad oxidativa del aceite de maíz, alcanzando valores similares a los obtenidos con antioxidantes de síntesis química. En conjunto, los resultados obtenidos son promisorios y alientan a continuar trabajando en evaluaciones tendientes a sustituir antioxidantes de síntesis química en diversas matrices agroalimentarias.

BC10. Métodos y tecnologías de propagación y domesticación de plantas para el desarrollo de una bioeconomía local basada en la biodiversidad

Sharry, S. (1,3,4)*; Weber, C. (2,3); Boeri, P. (4); Cellini, M. (1); Roussy, L. (5); Ramilo, D. (1); Sceglia, P. (5); Lopez, V.L. (1,6); Romero, M. (1); Galarco, S. (1). (1) Laboratorio de Investigaciones de la Madera (LIMAD). Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. (3) Comisión de Investigaciones Científicas (CICPBA). (4) Universidad Nacional de Río Negro. Viedma. CIT-CONICET Río Negro. (5) Unidad Promocional de Investigación y Desarrollo Ingeniería de Paisaje. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata. Argentina. (6) CCT La Plata (CONICET – La Plata) Buenos Aires, Argentina. *ssharry@agro.unlp.edu.ar

El Proyecto *Métodos y tecnologías de propagación y domesticación de plantas para el desarrollo de una bioeconomía local basada en la biodiversidad* busca generar conocimiento para la caracterización, conservación in situ y ex situ y propagación de bajo costo, de germoplasma vegetal, con el fin de mantener la diversidad biológica, para posicionarnos en el nuevo paradigma de la economía circular y bioeconomía basada en la biodiversidad y la biotecnología. A fin de contribuir al desarrollo de una bioeconomía local, se planteó este proyecto interdisciplinario, en el cual cada integrante del equipo de investigación resulta

una pieza fundamental para alcanzar los objetivos. El objetivo general es desarrollar, optimizar y adaptar nuevas metodologías y tecnologías de propagación y conservación de recursos genéticos vegetales para la producción de plantas. Las especies con las que se trabaja actualmente son especies forestales y de uso paisajístico nativas y exóticas para producción de madera. Hasta el momento se ha logrado analizar la reproducción sexual por semillas de *Polylepis tarapacana* y *Heteropteris angustifolia* Griseb, ya que este conocimiento es imperativo para la conservación y restauración de los bosques nativos. Se micropropagaron plantas de *Prosopis alpacato*, *P. caldenia* y de *Geoffrea decorticans*. Se establecieron a campo ensayos de roble y eucalipto. La consolidación de mecanismos de propagación, domesticación y establecimiento a campo de los recursos genéticos de plantas con uso actual o potencial, sumado a un fuerte componente de capacitación específica permite, no solo identificar necesidades, sino tomar intervención directa y decidida en aquellas áreas relacionadas con los actores sociales y los recursos naturales que posibiliten el empleo verde y un desarrollo sostenible.

BC11. Edición génica por CRISPR-Cas9: delimitación ética en el mejoramiento genético vegetal

Kandus, M.V. (1,2)*; Michel Fariña, J.J. (2,3); Lima, N.S. (3); González Pla, F.P. (4); Prada Oliveira, A. (5); Almorza Gomar D. (6); Salerno, J.C. (1,2,7).

(1) Instituto de Genética Ewald A. Favret, CICVyA, INTA, Argentina. (2) Universidad de Morón, Argentina. (3) Facultad de Psicología, U.B.A. – CONICET. Argentina. (4) Cátedra I Psicología, Ética Y Derechos Humanos. Facultad de Psicología, U.B.A., Argentina. (5) Instituto de Investigación e innovación en Ciencias Biomédicas de Cádiz (INIBICA). Facultad de Medicina, Cádiz, España. (6) Departamento de Estadística e Investigación Operativa. Facultad de Ciencias del Trabajo. Universidad de Cádiz. Cádiz, España. (7) Facultad de Ciencias Agrarias y Veterinarias, USAL, Argentina. *kandus.mariana@inta.gob.ar

Los sistemas CRISPR-Cas9, debido a su simplicidad, asequibilidad y personalización, han iniciado una revolución biotecnológica en diferentes campos. Los avances en salud humana en particular, abrieron una serie de cuestiones éticas generando un llamado a la cautela y a una reflexión en torno a los aspectos éticos, de salud pública, sociales y políticos. En este marco se inició el proyecto: “CRISPR-Cas9 y otros avances en genética y biotecnología: delimitación ética y desarrollo de protocolos de intervención”, cuyos objetivos son, en primer lugar, (i) relevar los principales avances de CRISPR-Cas9 a nivel nacional e internacional, aplicados al ámbito de vegetales, animales y humanos y (ii) realizar un inventario de casos, para detectar aquellos éticamente controvertidos. Se realizó una búsqueda de información en el ámbito vegetal y una encuesta preliminar a investigadores que trabajan con esta técnica en nuestro país, donde se consultó sobre: (i) limitaciones, (ii) riesgos para el medio ambiente o la salud humana, (iii) problemas éticos a futuro y (iv) marco regulatorio. Se relevó un alto número de citas en cultivos como arroz, *Arabidopsis*, tomate, maíz, soja, trigo, *Brassica*, papa y alfalfa, y también en tabaco, sorgo, pepino, lechuga, cebada, caña de azúcar, batata, mandioca, *Lotus*, *Citrus*, sandía, banana, uva, lino y algodón, pero en menor medida. Los caracteres objetivo del mejoramiento se basaron en calidad y valor nutricional, síntesis de metabolitos para uso nutracéutico/medicinal, retraso en la senescencia, resistencia a factores bióticos y abióticos, resistencia a herbicidas, obtención de plantas androestériles, haploides, auto-compatibles y modificaciones en la longitud de ciclo. No se detectaron casos controversiales desde el punto de vista ético. En las encuestas a investigadores, se detectaron las siguientes limitaciones de la técnica: (a) disponibilidad de Información genómica, (b) identificación de genes, (c) regeneración in vitro, (d) métodos de transferencia de ADN, (e) imposibilidad de mejorar caracteres de herencia cuantitativa, (f) costo y tiempo de adquisición de insumos y (g) disponibilidad de personal capacitado. Se encontró una alta concordancia entre investigadores en que CRISPR-Cas9 aplicado al mejoramiento vegetal no presenta riesgos para el medio ambiente o la salud humana. También coinciden en que no debería presentar ningún problema ético siempre que los desarrollos estén orientados al beneficio del consumidor y que su producción sea sostenible. En relación con el marco regulatorio, concuerdan en que será más fácil y menos costosa la

aprobación de estos productos en comparación con los OVGMs, siempre que no involucre la introducción de transgenes. Los resultados confirman que los avances son vertiginosos y que la técnica es promisorio, sin embargo, es necesario un enfoque multidisciplinario que contemple, además, la percepción pública, lo cual resultará beneficioso para productores, consumidores y ambiente.



Biotecnología de Microorganismos

Biotecnología de Microorganismos

BM1. Red RENUWAL: red CYTED iberoamericana para el tratamiento de efluentes con microalgas

Navarro-Llorens, J.M. (1)*; Acien Fernández, F.G. (2); Atehortua, L. (3); Belenguer Pla, F. (4); Buitrón, G. (5); Cunill Flores, J.M. (6); Daiha Benevides, S. (7); De la Roche, J.P. (8); De Oliveira Florentino Silva, H. (9); Esteves Lopes Navalho, J.C. (10); Guerrero Barrantes, M. (11); González Fernández, C. (12); Laranjeira Silva, J.G. (13); Marconi, L. P. (14); Moreira Soares, H. (15); Muñoz Torre, R. (16); Peñuela, G. (17); Perales Vargas-Machuca, J.A. (18); Pozo Dengra, J. (19); Roberto Alves, C. (20); Senorans, J. (21); Sepúlveda Vega, C. (22); Trindade de Abreu, M.H. (23); Valenzuela, R.X. (24); Vicente Crespo, G. (25); Gouveia, L. (26). (1) BBM, Universidad Complutense de Madrid, UCM, España. (2) Universidad de Almería, UAL, España. (3) Universidad de Antioquía, Colombia. (4) Giahsa, España. (5) Universidad Nacional Autónoma de México, México. (6) Universidad Politécnica Metropolitana de Puebla (UPMP), México. (7) EMBRAPA, Brasil. (8) Microalgae Solutions, España. (9) UNESP, Brasil. (10) NECTON, Portugal. (11) Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica. (12) IMDEA Energía, España. (13) Alimicroalgae, Portugal. (14) Plant Biotechnology Laboratory, CEBBAD, Maimónides University, Argentina. (15) Universidad Federal de Santa Catarina, Brasil. (16) Universidad de Valladolid, UVA, España. (17) GDCON, Colombia. (18) Universidad de Cádiz, UCA, España. (19) Biorizon Biotech S.L., España. (20) Universidad estatal de Ceará (UECE), Brasil. (21) Universidad Autónoma de Madrid, UAM, España. (22) Universidad de Antofagasta, Chile. (23) Algaplus, Portugal. (24) Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas, CIEMAT, Madrid, España. (25) Universidad Rey Juan Carlos, URJC, Madrid, España. (26) GreenCoLab, Portugal. *joana@bio.ucm.es

El programa CYTED es un Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo que surgió de la necesidad de promover la cooperación en temas de ciencia, tecnología e innovación en Iberoamérica. Uno de los

instrumentos que utiliza para sus objetivos es la creación de Redes temáticas que engloban universidades, centros de investigación de entidades públicas o privadas y empresas cuyas actividades científicas y/o tecnológicas estén relacionadas dentro de un ámbito común de interés.

En este contexto, a fines del 2019 se aprobó la red RENUWAL (320RT0005) o Red iberoamericana para el tratamiento de efluentes con microalgas con una vigencia de 4 años. El objetivo general de la red RENUWAL es crear una Red multi- e inter-disciplinaria que permita la sinergia necesaria entre los grupos participantes para impulsar las aplicaciones de las microalgas como agentes de reciclaje en el marco de la Economía Circular.

En concreto, mediante la Red RENUWAL se persigue i) analizar y desarrollar nuevas estrategias en el tratamiento de efluentes con microalgas que generen productos de valor añadido como alternativa a los procesos convencionales; ii) estimular la formación técnico-científico en esta área; iii) promover la transferencia tecnológica del conocimiento de la Red a las empresas de Iberoamérica; iv) promover la difusión general del conocimiento en esta área, y v) establecer un consorcio estable de grupos y entidades que permita coordinar los cambios tecnológicos y sociales en este campo.

Esta red, abierta a nuevos miembros que trabajen en el sector, la componen actualmente 18 centros I+D de 8 países iberoamericanos (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, España, México, Portugal) y 8 empresas de Brasil, España y Portugal.

Las redes temáticas, como RENUWAL, puede ser una de las respuestas a cómo la Biotecnología verde puede contribuir a solventar desafíos económicos, ambientales y sociales.

BM2. Caracterización de levaduras aisladas de kefir como potenciales agentes de control biológico en especies de *Aspergillus*

Moure, M.C. (1,2)*; Alconada, T. (1); León Peláez, A. (2)

(1) CINDEFI- CONICET, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

(2) Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. La Plata, Argentina. candelamoure1@gmail.com

En la actualidad, la búsqueda de levaduras como agentes antifúngicos ha despertado creciente interés. El kefir es una bebida probiótica que presenta diversas propiedades entre las que se encuentra su capacidad antifúngica; la contribución de las levaduras del kefir a dicha capacidad resulta un aspecto novedoso dado los escasos antecedentes bibliográficos.

Se aislaron e identificaron, por métodos fenotípicos y moleculares, levaduras de kefir de leche y agua. Se evaluó su capacidad antifúngica frente a los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* mediante las técnicas: ensayos duales, en donde se evaluó el crecimiento simultáneo de los microorganismos en placas de Petri; reducción de la germinación de conidios, en donde se evaluó los metabolitos solubles generados por las levaduras en un caldo de cultivo y su efecto sobre la germinación de conidios; y ensayos de doble placa en donde se evaluó la producción de compuestos volátiles antifúngicos y su efecto en el crecimiento fúngico. A partir de los aislamientos con mayor inhibición, se estudió la capacidad de captura de aflatoxina B1, coincubando por 30 minutos cultivos de levaduras con una solución patrón de AFB1 de 150 ppb. Posteriormente, se realizaron las mediciones en los sobrenadantes mediante un ELISA competitivo directo (AgraQuant®, Romers Labs).

De un total de 20 aislamientos, pertenecientes a las especies *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia membranifaciens*, *Geotrichum candidum*, *Candida ethanolica*, 8 de ellos correspondientes a las primeras 4 especies, presentaron inhibiciones medias/altas para ambas especies fúngicas, con valores de reducción entre 92-50%. De estos aislamientos, dos correspondientes a *P. kudriavzevii*, se destacaron por producir compuestos volátiles con un marcado efecto sobre el tiempo de latencia de ambos hongos, los tiempos de latencia aumentaron 2,5 veces para *A. flavus* y 6,2 veces para *A. parasiticus*. Asimismo, 2 aislamientos pertenecientes a las especies *P. membranifaciens* y *S. cerevisiae*, presentaron los mayores valores de captura AFB1, con porcentajes de 25,5 y 28,9 respectivamente.

La capacidad antifúngica observada en las levaduras aisladas de kefir, en particular las pertenecientes a los géneros *Pichia* y *Saccharomyces*, de acuerdo a las medidas de inhibición del crecimiento sobre *Aspergillus* sp. y a la capacidad de captura de AFB1, evidencian su posible aplicación como agentes de biocontrol.

BM3. Estudio de un proceso de bioestimulación de microorganismos autóctonos en suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo de la cuenca neuquina

Pojmaevich, A. (1)*; Demaría, I. (1); Cancino, C. (1); Pincheira, J. (1); Camacho, A. (1), Ruberto, L. (2); Busto, V. (2, 3)

(1) IQAB-UTN-FRN, Argentina. (2) NANOBIOTEC-FFyB-UBA, Argentina. (3) CTQ-UTN-FRBA, Argentina. *abpojmaevich@gmail.com

Los suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HTP) representan una importante problemática ambiental. La biorremediación ha demostrado ser una técnica eficaz para la recuperación de estos suelos. Es sabido que el mejoramiento de las condiciones ambientales y nutricionales de la microflora autóctona de los suelos (bioestimulación), puede incrementar los procesos de biodegradación. El objetivo de este trabajo fue evaluar un proceso de bioestimulación de los microorganismos autóctonos presentes en un suelo contaminado (SC) con HTP de la cuenca neuquina. Se diseñaron ocho microcosmos (MC) utilizando frascos de boca ancha conteniendo 200 g de SC tamizado. Cuatro MC fueron bioestimulados (BIO) adicionando una solución de 1,62 g de NH_4Cl y 0,19 g de Na_2HPO_4 , ajustando así los nutrientes (C:N:P) a una proporción de 100:10:1 en relación al contenido inicial de HTP (27,78 g HTP/Kg SC). A los demás MC se les corrigió la humedad inicial al 15% (CC). Luego se tomaron dos CC y dos BIO, y se les adicionó 10% de viruta de madera estéril como mejorador de la estructura y capacidad de aireación del suelo, denominándolos CC-V y BIO-V, respectivamente. Todos los MC se incubaron a 25°C ajustando la humedad al 15% y mezclándolos cada 3 días con el objeto de airear el suelo. Se tomaron muestras a los 0, 28 y 42 días, y se determinaron los HTP, actividad microbiana total (AMT), recuento de bacterias aerobias totales (BAT) y bacterias degradadoras totales (BDT). A los 28 días todos los sistemas evaluados mostraron una marcada reducción en el contenido de HTP, la cual se incrementó al cabo de 42 días, siendo en promedio de un 88% para CC y BIO, y de un 79% para CC-V y BIO-V con respecto al valor inicial. Estas reducciones

estarían relacionadas con los incrementos observados para el mismo período tanto en la AMT como en los recuentos bacterianos. La AMT se incrementó 4,3 y 3,8 veces para CC y BIO, y 1,95 y 3,24 veces para CC-V y BIO-V, respectivamente. Tanto para los recuentos de BAT como para los de BDT los incrementos registrados en UFC/g fueron similares (dos órdenes de magnitud para CC y BIO, y de solo un orden para CC-V y BIO-V en relación a los recuentos iniciales). La ausencia de diferencias significativas en los porcentajes de remoción de los HTP entre los sistemas CC y BIO (con y sin viruta), indicaría que la aplicación de una técnica de bioestimulación en este suelo no mejora la remoción en comparación con los sistemas donde solo se incorporó aire a través del mezclado. Por otra parte, el agregado de viruta tampoco contribuyó a una mejora en el proceso de degradación de los HTP como era esperado. Por lo tanto, se puede concluir que una estrategia de bioestimulación y el agregado de viruta no resultarían efectivos para este tipo de suelos, con el nivel de contaminación y el aparente grado de adaptación de la microflora autóctona, siendo el mezclado, aireación y ajuste de humedad un proceso simple y de bajo costo que favorecería la degradación de los HTP.

BM4. Producción de carotenoides por *Rhodotorula mucilaginosa*, reutilizando un desecho de la industria olivícola

Ghilardi, C. (1)*; Borroni, V. (2); Carelli, A.A. (1).

(1) Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI-UNS-CONICET), Argentina.

(2) Instituto de Tecnología en Polímeros y Nanotecnología (ITPN-UBA-CONICET), Argentina. *cghilardi@plapiqui.edu.ar

En nuestro país el método más usado para la extracción de aceite de oliva es la centrifugación de dos fases, obteniéndose además del aceite una gran cantidad de biomasa llamada alperujo. El alperujo es semisólido y está constituido por la pasta de las aceitunas, los carozos y el agua de vegetación. Tiene un alto contenido de humedad (~65%) y presenta sales y polifenoles. El 90% de su peso seco es materia orgánica (fibras, proteínas, lípidos y azúcares). La reutilización de este tipo de biomasa permite disminuir su impacto ambiental, y obtener

compuestos de alto valor agregado; ya sea que estén presentes en el residuo o que puedan generarse a partir de él. De esta manera, se estudió la utilización del alperujo como sustrato de bajo costo para la producción microbiana de compuestos con importancia económica como los carotenoides. Los carotenoides son compuestos de interés para la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética por sus propiedades antioxidantes y por sus colores. Se los utiliza como colorantes y aditivos en suplementos nutricionales y nutracéuticos. En este trabajo, se analizó el desarrollo de *Rh. mucilaginosa* y la producción de pigmentos carotenoides, utilizando como sustratos agua de alperujo (AA) y extractos acuosos (EA) del mismo.

El crecimiento de la levadura, se realizó mediante recuento en cámara de Neubauer y peso seco. El cultivo se llevó a cabo a 30 °C durante 7 días. Los carotenos fueron aislados mediante extracción con acetona y separados e identificados por HPLC-DAD. *Rh. mucilaginosa* fue capaz de desarrollarse en las distintas concentraciones de EAs y AA, obteniéndose la mayor cantidad de levaduras en el EA 10 %. La biomasa producida disminuye en AA y en la concentración menor (5%) como mayor (30%), de los EAs. El crecimiento de la levadura, fue acompañado por el consumo de monosacáridos (glucosa y fructosa), una reducción del contenido de proteínas y la alcalinización en todos los medios. No hubo consumo de polifenoles. La producción volumétrica total de carotenoides aumentó significativamente con la concentración de los EAs, alcanzando valores máximos en AA (7.3 ± 0.6 mg/L) y en los EAs 20% y 30% (5.5 ± 1.0 mg; 4.9 ± 0.5 mg/L) respectivamente. Los carotenoides que se hallaron fueron: β -caroteno, toruleno, torularodina y γ -caroteno. Todos ellos con elevado poder antioxidante. En comparación al inóculo inicial, el contenido de carotenoides específicos, aumenta en todas las concentraciones de EAs y también en el AA, siendo mayor en EA 30% y AA. En consecuencia, estos medios podrían usarse para inducir la producción de pigmentos carotenoides.

BM5. Producción de N-acil homoserín lactonas por la rizobacteria *Burkholderia* sp. y rol de los sistemas de quorum sensing sobre actividades biocontroladoras de fitopatógenos fúngicos de maní

Nievas, F.; Foresto, E.; Cossoovich, S.; Giordano, W.; Bogino, P.*

Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (INBIAS), CONICET, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac. 36 Km 601, CP X5804BYA, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *pbogino@exa.unrc.edu.ar

El maní (*Arachis hypogaea* L.) es un cultivo regional de alto impacto socioeconómico para la zona centro-sur de la provincia de Córdoba. El cuidado de la calidad del grano obtenido es crucial ya que es un producto de exportación. Para ello se aplican y se proponen varios esquemas de trabajo vinculados a evitar el desarrollo de enfermedades.

En la rizósfera de los vegetales se encuentra establecida una amplia y diversa comunidad microbiana que interacciona entre sí y con la planta mediante diferentes mecanismos de comunicación. *Quorum sensing* (QS) es un proceso de comunicación ampliamente difundido entre bacterias cuyo funcionamiento depende de la síntesis de señales químicas que se acumulan como resultado del crecimiento bacteriano hasta alcanzar un umbral de concentración que permite la regulación coordinada de la expresión de genes a nivel poblacional. En bacterias Gram negativas la principal molécula de QS es la N-acil homoserín lactona (AHL) cuya síntesis y detección está ligada a sistemas génicos denominados luxI/luxR. El objetivo del presente trabajo consistió en determinar la presencia de sistemas de QS, identificar las AHLs producidas y evaluar el rol de QS sobre la capacidad de biocontrol de la cepa *Burkholderia* sp. Q53 aislada de la rizósfera de maní. Los resultados con biosensores y cromatografía líquida asociada a espectrometría de masa mostraron que la cepa fue capaz de producir diferentes tipos de AHLs. La producción de estas moléculas de QS fue asociada a dos sistemas génicos de QS denominados *cepl/R* (QS1) y *bafl/R* (QS2). La construcción de mutantes delecionadas en los genes de las AHL sintasas *cepl* y *bafl* (S1 y S2; respectivamente) permitió determinar que el primer sistema es responsable de la síntesis de AHLs de cadena acilo corta, mientras que el segundo sistema produce AHLs de cadena acilo larga. Debido a la capacidad de bacterias del género *Burkholderia* de inhibir el desarrollo fúngico, se evaluó esta capacidad en la cepa silvestre (wt) y en las mutantes en los sistemas de QS (S1, S2 y doble mutante;

DM). En general pudo observarse que tanto la cepa wt como las mutantes en QS inhibieron el crecimiento *in vitro* de los fitopatógenos fúngicos de maní *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* y *Macrophomina phaseolina*. En el caso de *S. sclerotiorum* los sistemas de QS parecieron no ser relevantes y el fenotipo inhibitorio estaría asociado a metabolitos bacterianos no regulados por QS. Para *M. phaseolina*, la mutante S1 mostró un mayor grado de inhibición respecto de las mutantes S2 y DM; mientras que para *S. rolfsii* las variantes S2 y DM no tuvieron efectos inhibitorios. Este resultado sería indicativo de que el sistema bafI/R de *Burkholderia* sp. Q53 sería crucial para un desarrollo pleno de actividad antifúngica de esta bacteria. Los hallazgos son importantes asumiendo la necesidad de identificar y probar la utilidad de compuestos regulados por QS como estrategia novedosa para controlar enfermedades de fitopatógenos fúngicos.

BM6. Tratamiento biológico acoplado a fotocátalisis para la degradación eficiente de efluentes de la industria textil

Ceretta, M.B. (1)*; Nercessian, D. (2); Silvestri, S. (3); Vieira, Y. (4); Wolski, E. A. (1).

(1) Grupo de Ingeniería Bioquímica (GIB), Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Ambiente (INCITAA), Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), CIC. (2) Instituto de Investigaciones Biológicas (IIB), FCEyN, UNMdP. (3) Programa de Posgrado en Ingeniería Ambiental, Universidad Federal de Santa María. (4) Programa de Posgrado en Química, Universidad Federal de Santa María. mb_ceretta@hotmail.com

El uso desmedido, la contaminación y el agotamiento de las distintas fuentes de agua, ha llevado a concentrar la atención en los temas relacionados a su uso, cuidado, gestión y saneamiento. En este sentido, el 80% de los efluentes líquidos generados por actividades industriales no reciben tratamiento de ningún tipo, pudiendo ocasionar severos impactos en el medio ambiente y además impidiendo la re-utilización del recurso hídrico. Los efluentes de la industria textil, son considerados de los más contaminantes no sólo por el gran volumen generado sino además por su composición (elevada salinidad, pH alcalino, elevado material

sólido en suspensión, presencia de metales pesados, surfactantes, mordientes y elevada concentración de colorantes). En el presente trabajo se evaluó un sistema de tratamiento para un efluente textil (ET), sin pre-tratar ni diluir, con una primera etapa de tratamiento biológico con un consorcio bacteriano y una segunda etapa de fotocátalisis, con la utilización de ZnO:Polipirrol (25:1), un compuesto novedoso para esta aplicación. El ET, que contenía el azo-colorante Direct Black 22 (DB22, concentración inicial: 205,15 mg.L⁻¹), se trató con el consorcio bacteriano durante 96 hs y luego se aplicó el proceso de fotocátalisis durante 60 minutos. La combinación de ambos procesos dio como resultado una mayor eficiencia de decoloración con una disminución del 95,7% en la concentración de DB22 (8,76 mg.L⁻¹), en comparación con los resultados obtenidos con el tratamiento biológico o la fotocátalisis, aplicados independientemente (alcanzando una decoloración de 71,38 ±1,41% y 83,55% respectivamente). El tratamiento combinado también produjo una disminución del carbono orgánico total del 99,8%, lo que corrobora la degradación del colorante. Los productos de dicha degradación se analizaron mediante LC-MS/MS, esto permitió sugerir una posible ruta de degradación. Por último, se llevaron a cabo ensayos de fitotoxicidad con la especie *Lactuca sativa*. El producto obtenido luego del tratamiento biológico acoplado a fotocátalisis mostró un aumento en el porcentaje de germinación y la elongación radicular (74,66%, 1,50±0,21 cm) respecto al tratamiento biológico sólo (31,11%, 1,43±0,53 cm) y al efluente sin tratar (12,44%, 0,72±0,11 cm), demostrando una importante reducción de la fitotoxicidad. El tratamiento propuesto en este trabajo para el ET representa una alternativa atractiva por su eficiencia y facilidad de implementación, aunque son necesarios estudios a mayor escala para determinar su aplicabilidad.

BM7. Sucesión temprana de cepas bacterianas procedentes de comunidades multiespecie asociadas como biofilm en la rizósfera de alfalfa

Cossovich, S.; Nievas, F.; Foresto, E.; Primo, E.; Giordano, W.; Bogino, P.*

Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (INBIAS), CONICET, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs Exactas, Físico-Químicas y Naturales,

Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac. 36 Km 601, CP X5804BYA, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *pbogino@exa.unrc.edu.ar

Los biofilms microbianos en la naturaleza son estructuras formadas por comunidades de especies asociadas en una matriz de compuestos extracelulares protectores. Este complejo se encuentra adherido a superficies bióticas o abióticas y representa un estilo de vida en el cual cada microorganismo cumple un rol en la dinámica estructural y fisiológica del biofilm. Aunque la vida en biofilm tiene varias ventajas para las bacterias del suelo, la composición y funciones de los biofilms bacterianos en los diferentes micronichos del suelo son poco conocidas. Muchos procesos de importancia ecológica, interactiva y productiva tienen lugar entre plantas y microorganismos en la rizósfera, definida como la porción de suelo más cercana a las raíces de las plantas. Sin embargo, se sabe poco sobre el establecimiento, la sucesión y las funciones de las comunidades bacterianas en la rizósfera que dependen del desarrollo de estructuras del tipo biofilm. El objetivo de este estudio fue evaluar la sucesión temprana de comunidades multibacterianas establecidas como biopelículas en la rizósfera de *Medicago sativa* (alfalfa). Este trabajo utilizó metodologías de caracterización fisiológica y molecular para estudiar los cambios en las comunidades bacterianas. De particular interés fue el desarrollo de un dispositivo tecnológico que permitió el aislamiento de comunidades adheridas a un soporte conteniendo quimioattractantes obtenidos de exudados radicales de alfalfa. De esta manera se realizó un estudio comparativo de sucesión entre comunidades aisladas a diferentes tiempos de exposición de estos soportes a una suspensión de suelo rizosférico (1 día y 5 días: T1 y T5, respectivamente), con la comunidad naturalmente establecida en la rizósfera de raíces de alfalfa (SR). Los resultados mostraron diferencias entre las comunidades evaluadas (T1, T5 y RS) tanto a nivel fisiológico (diferentes recuentos y capacidades de formación de biopelículas) como a nivel de la composición microbiana. En general se encontraron comunidades formadas por cepas con mayor capacidad de formar biofilm pertenecientes a γ -proteobacterias en las etapas iniciales del desarrollo del biofilm asociado a las raíces, mientras que las α -proteobacterias y Actinobacterias prevalecieron en las biopelículas maduras establecidas naturalmente en la

rizósfera. Por último, se realizaron ensayos de adhesión bacteriana a raíces, los cuales mostraron cambios en la estructura y dinámica de la comunidad bacteriana después de cortos tiempos de experimentación que se correlacionaron con los resultados obtenidos en superficies artificiales. El estudio demostró que el establecimiento de comunidades multibacterianas en la rizósfera de la alfalfa es un proceso dinámico que probablemente incluye la formación inicial de estructuras de tipo biofilm por cepas altamente adherentes y la posterior evolución hacia estructuras maduras a través de mecanismos de reemplazo y coexistencia de especies.

BM8. Posición filogenética y características simbióticas de cepas de *Mesorhizobium* utilizadas como inoculantes de garbanzo

Foresto, E.; Nievas, F.; Cossoyich, S.; Giordano, W.; Bogino, P.*

Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud (INBIAS), CONICET, Departamento de Biología Molecular, Facultad de Cs Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Ruta Nac. 36 Km 601, CP X5804BYA, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *pbogino@exa.unrc.edu.ar

El cultivo de garbanzo (*Cicer arietinum* L.) adquiere relevancia debido al elevado contenido nutricional de sus granos. Esta propiedad se realza en el contexto de las necesidades alimenticias requeridas para sostener a la creciente población mundial. En Argentina la superficie productiva de cultivo de esta leguminosa se encuentra en expansión progresiva, siendo un cultivo de invierno con relativamente reducidos requerimientos hídricos. Estos hechos ubican al cultivo de garbanzo como una alternativa a otros cultivos invernales tradicionales. El éxito de los cultivos de plantas leguminosas depende en gran medida de su inoculación con cepas de rizobios altamente efectivas en su capacidad simbiótica para proveer al vegetal de compuestos nitrogenados asimilables. Un requisito básico para cualquier programa de inoculación es el conocimiento preciso de la posición filogenética de las cepas promotoras del crecimiento vegetal utilizadas. Debido a que la importancia agrícola del cultivo de garbanzo en Argentina es muy reciente y a que no existen estudios sobre la posición taxonómica de las cepas R30 y R31

recomendadas para su uso como inoculantes, el objetivo del presente trabajo fue determinar la identidad filogenética de las dos cepas utilizadas como inoculantes de garbanzo en Argentina mediante la implementación de un análisis de secuencia multilocus (multilocus sequence analysis, MLSA) en siete genes housekeeping y taxonomía asociada a gen ARNr16S. También se llevó a cabo un análisis de la secuencia parcial del gen *nodC* para definir el rango de hospedadores y caracterizar las propiedades simbióticas de las cepas a nivel filogenético. Como resultado de los análisis realizados a través de la construcción de árboles filogenéticos e identidad promedio de nucleótidos (average nucleotide identity, ANI), las cepas R30 y R31 fueron identificadas como *Mesorhizobium ciceri* y *Mesorhizobium mediterraneum*, respectivamente. Asimismo, ambas cepas estuvieron estrechamente relacionadas a las cepas tipo nodulantes de garbanzo originalmente descritas. Este estudio filogenético proporciona la evidencia más completa disponible hasta el momento sobre el estado taxonómico de las cepas de mesorizobios utilizadas para inocular garbanzo en nuestro país. Finalmente se realizó un ensayo de inoculación de garbanzo y se determinó que la cepa de *M. ciceri* R30 fue simbióticamente superior a la cepa de *M. mediterraneum* R31 debido a la mayor capacidad para generar nódulos por planta.

Los datos obtenidos adquieren gran relevancia a los fines de diseñar mejores estrategias de inoculación para el cultivo de garbanzo en diferentes ubicaciones agroclimáticas. Estudios de diversidad de poblaciones nativas de mesorizobios y de adaptación de cepas introducidas deberían realizarse en suelos donde se cultiva garbanzo en Argentina. Mientras tanto se recomiendan estrategias de coinoculación con R30 y R31.

BM9. Evaluación del secretoma de *Pycnoporus sanguineus* obtenido sobre diferentes fuentes de carbono, y su potencial uso industrial

ordino, J.; Larran, A.S.; Permingeat, H.R.; Perotti, V.E.*

Dpto de Inst. Básico - Facultad de Ciencias Agrarias – UNR – Argentina.

*valeria.perotti@unr.edu.ar

Los hongos son un diverso grupo de organismos que resultan esenciales para el buen funcionamiento de los ecosistemas. En especial, los hongos de la podredumbre blanca de la madera son los únicos capaces de metabolizar la lignina proveniente de material leñoso, por lo tanto son fundamentales en el reciclado de la materia. Las enzimas que secretan constituyen un enorme atractivo por sus múltiples aplicaciones. Particularmente, el hongo *Pycnoporus sanguineus* ha sido probado en varios procesos industriales por el poder de sus enzimas lignocelulolíticas y sus pigmentos con propiedades antimicrobianas. Este trabajo tuvo como objetivo principal caracterizar las enzimas lignocelulolíticas obtenidas a partir de distintos secretomas de una cepa local de *P. sanguineus*, para evaluar su potencial uso en procesos industriales. Los secretomas fueron obtenidos utilizando distintos sustratos como fuente de carbono, entre ellos, pastizales nativos como *Spartina argentinensis* y *Panicum prionitis* y materiales agroforestales como salvado de trigo, viruta y aserrín de pino y aserrín de eucalipto. Se evaluaron crecimiento (OD y determinación del halo en medio sólido), proteínas totales (Bradford) y pigmentos secretados (TLC). Además, se determinaron las actividades celulasa, xilanasas, lacasa y manganoso peroxidasa (MnP) en placas (método semicuantitativo) bajo diferentes condiciones. Los resultados indican que los secretomas obtenidos en los medios con salvado de trigo, *S. argentinensis* y *P. prionitis* como sustrato representan las mejores opciones desde el punto de vista del potencial escalado para una eventual producción industrial. Los mismos mostraron buenas tasas de crecimiento y rendimiento (en producción de proteínas totales) y contienen enzimas con actividad celulasa, MnP y lacasa, a pH 6 y 28 °C, desde los primeros días de cultivo fúngico. Asimismo, los tres secretomas mencionados mostraron actividad para la enzima MnP en condiciones subóptimas (pH 8 y 60 °C), las cuales se asemejan a las condiciones requeridas por una de las etapas de la producción de papel. En cuanto a la producción de pigmentos, la condición más prometedora parece ser el medio con salvado de trigo, aunque son necesarios nuevos estudios para arribar a una conclusión certera.

BM10. Bioprospección de enzimas activas sobre carbohidratos codificadas en el genoma de *Pycnoporus sanguineus*

Garrido, M. (1,2)*; Brunecky, R.(3); Landoni, M. (4); Campos, E. (1); Wirth, S. (2). (1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA, Argentina. (2) Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, FCEN-UBA, Argentina. (3) Chemical and Biosciences Center, NREL, USA. (4) Centro de Investigaciones en Hidratos de Carbono, FCEN-UBA, Argentina. *garrido.mercedes@inta.gob.ar

A medida que aumentan las preocupaciones sobre el cambio climático y la disminución de los suministros de combustibles fósiles, existe una urgencia cada vez mayor de utilizar materias primas de origen vegetal en biorrefinerías. Sin embargo, para lograrlo, es necesario superar las barreras químicas y estructurales de la lignocelulosa que convierten a la biomasa vegetal en una sustancia altamente recalcitrante. Los esquemas de conversión de biomasa a azúcares fermentables se basan en una combinación de pretratamientos químicos seguidos de pasos de hidrólisis enzimática. Entre las principales celulasas utilizadas, se encuentran las celobiohidrolasas de tipo I (CBHI, EC 3.2.1.176), exoglucanasas con alta procesividad que despolimerizan las cadenas de celulosa desde el extremo reductor. El hongo basidiomiceto *Pycnoporus sanguineus*, es un excelente degradador de la biomasa vegetal, utilizando una amplia diversidad de enzimas. Luego de realizar un análisis exhaustivo de los datos genómicos y secretómicos disponibles para este hongo, se seleccionaron dos CBHI de la familia GH7, *PsCel7A* y *PsCel7B*, para su expresión recombinante y posterior caracterización. Los genes correspondientes fueron sintetizados y clonados en un vector de expresión en *Trichoderma reesei* (*pTrEno*), fusionados a un tracto de seis histidinas en el extremo C-terminal. Las proteínas recombinantes producidas fueron purificadas a partir del sobrenadante de cultivo del hongo recombinante y se determinaron las temperaturas y el pH óptimos para cada una utilizando el sustrato comercial *pNP-β-lactósido* (*pNPL*). La actividad de *PsCel7B* sobre celulosa pretratada con ácido fosfórico (PASC, por sus siglas en inglés) se determinó cuantificando por HPAEC-PAD la celobiosa liberada. Se evaluó además el posible sinergismo de *PsCel7B* con una monooxigenasa lítica de polisacáridos (LPMO), previamente caracterizada (*PsAA9A*) que genera nuevos extremos reductores por oxidación de las regiones cristalinas de la celulosa.

También se analizó la conversión final a glucosa del rastrojo de maíz pretratado (PCS), por *PsCel7A* y *PsCel7B* en presencia de endo- β -glucanasas y β -glucosidasas comerciales. Para ambas enzimas CBHI, utilizadas en una concentración final de 28 mg/g de glucano, se observó una conversión de glucanos de aproximadamente un 40% luego de 5 días de incubación, respecto del 6% obtenido en ausencia de las mismas. Estos resultados muestran el potencial de las CBHI de *P. sanguineus* para su incorporación en el desarrollo futuro de cócteles enzimáticos para la deconstrucción de celulosa.

BM11. Actividad (hemi)celulolítica de *Paenibacillus xylanivorans*

Topalian, J. (1)*; Garrido, M. (1); Blasco, M. (2); Campos E. (1)

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina. (2) Departamento de Bioprocesos, INTI, Buenos Aires, Argentina. topalian.juliana@inta.gob.ar

La bioconversión de lignocelulosa en oligosacáridos prebióticos y azúcares fermentables es un proceso de gran importancia para la valorización de la biomasa residual. Para ello, es necesaria la producción de extractos enzimáticos eficientes en la deconstrucción de los polisacáridos estructurales que componen la pared celular vegetal, celulosa y hemicelulosa. La celulosa es un polímero lineal de moléculas de glucosa mientras que la hemicelulosa es un heteropolímero ramificado de composición variable, cuya cadena principal está compuesta por xilano. La especie bacteriana *Paenibacillus xylanivorans* ha sido recientemente descrita como una especie con la capacidad de secretar enzimas xilanasas en condiciones apropiadas de cultivo. El objetivo de este trabajo fue la optimización del cultivo de *P. xylanivorans* en salvado de trigo (WB), un sustrato de bajo costo, para maximizar la actividad xilanasa extracelular. En base a los antecedentes, se ensayaron diferentes condiciones de cultivo, logrando la mayor actividad xilanasa por cultivo de 48 a 72 hs, en frasco agitado con deflectores, a 28°C, con 1% de sustrato en un medio salino. Se determinó la estabilidad del extracto en el tiempo a distintas temperaturas (4°C, -20°C, -80°C). Mediante análisis por espectrometría de masa, se identificaron las principales enzimas responsables de la actividad

observada. Los resultados obtenidos demuestran la factibilidad de obtener extractos enzimáticos de *P. xylanivorans* utilizando fuentes de carbono económicas como sustrato y abren la posibilidad de su aplicación en bioprocesos para la degradación del xilano presente en biomasa lignocelulósica.

BM12. Selección de estrategias biológicas de remediación para el tratamiento de efluentes de curtiembre

Barroso, C.N.*; Paisio, C.E.; Agostini, E.; González, P.S.

Departamento de Biología Molecular, FCEFQyN, INBIAS-CONICET, Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *cbarroso@exa.unrc.edu.ar

El vertido de efluentes de curtiembres sin tratamiento previo en los cuerpos de agua naturales, representa una problemática medioambiental de gran importancia. Estos efluentes presentan alto contenido de materia orgánica y sustancias tóxicas, entre ellas cromo, sulfatos y fenoles, razón por la cual es necesario su tratamiento antes de ser liberados en cuerpos de agua naturales. En este trabajo se analizaron dos estrategias biológicas de tratamiento, la bioestimulación con compuestos inorgánicos (BE) y el bioaumento con lodos activados (BA), a fines de reducir la materia orgánica presente en el efluente de una curtiembre ubicada al sur de la provincia de Córdoba. En cuanto a los ensayos de BE, en primera instancia se realizó una caracterización físico-química del efluente y se determinó la relación C:N:P de los mismos, a fines de lograr la relación final 100:10:1, la cual se reconoce como óptima para procesos bioquímicos degradativos. Cuando fue necesario, se añadió KNO₃ como fuente de N y Na₂H₂PO₄/Na₂HPO₄ como fuente de P (50-50%). Para el BA se determinaron las condiciones óptimas para la formación de un lodo de buena calidad, lo cual se evaluó determinando el valor del Índice del lodo mediante el programa Biofac. El lodo obtenido se inoculó al 1% (v/v) en los efluentes a tratar. En ambos tratamientos los Erlenmeyers se incubaron a 75 rpm y 28°C, durante 5 y 10 días, y luego se determinó la demanda química de oxígeno (DQO), como una medida de la concentración de materia orgánica presente. Los resultados mostraron que cuando se aplicó BE a efluentes cuyas concentraciones iniciales de DQO fueron entre 1772-2468 mg/L, las eficiencias de remoción (ER) obtenidas

fueron en promedio 60%, tanto a los 5 como a los 10 días de exposición, observándose en ambos tiempos una ER mayor que el control (remoción efectuada por la atenuación natural), donde se detectó un 45% de remoción. De la misma manera, cuando se empleó BA con lodos activados, las ER fueron similares a los 5 y 10 días, siendo éstas en promedio de 58%, un 10-12% mayor que el control. La utilización de las estrategias biológicas de BE y BA de manera conjunta, mostró resultados similares a su aplicación de manera independiente. A partir de este resultado, se podría concluir, que sería factible aplicar cualquier estrategia evaluada (BE o BA), sin embargo, el BA resulta ser más práctico, sencillo y económico para su implementación en la industria. Por esta razón, nuestros estudios continúan con la profundización de esta estrategia. Para ello se comenzó con el estudio de las comunidades de organismos presentes en los lodos, a fin de analizar su posible modificación durante el proceso de remediación. Los resultados preliminares indican que en la comunidad de microalgas, los grupos taxonómicos más abundantes son *Cyanophyta* y *Bacillariophyta*, mientras que para la microfauna el grupo taxonómico más abundante es el de Flagelados grandes, siendo el género principal *Euglena* sp.

BM13. Actividad antimicrobiana de cepas del género *Burkholderia* contra fitopatógenos de relevancia agronómica

Grispi, J. A.; Alvarez, F.; Simonetti, E.

Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA), CONICET-FAUBA. grispi.juanangel@gmail.com

Las bacterias pertenecientes al género *Burkholderia* poseen una gran versatilidad metabólica y son capaces de sintetizar combinaciones únicas de moléculas bioactivas cepa-dependientes, algunas de las cuales presentan un alto potencial biotecnológico para su aplicación como biopesticidas. Nuestro laboratorio cuenta con las cepas nativas *B. ambifaria* BNM299 y *B. pyrrocinia* BNM345, aisladas a partir de la rizósfera de plantas de soja, y la cepa BNM349, aislada a partir de bulbos de gladiolo con síntomas de pudrición e identificada como *B. gladioli* pv. *gladioli*. La actividad antimicrobiana de estas cepas se evaluó in vitro por difusión

en agar utilizando células vivas, sobrenadantes libres de células y extractos de membrana contra distintos microorganismos fitopatógenos. Si bien las tres cepas de *Burkholderia* mostraron actividad antimicrobiana, las fracciones extracelular y de membrana mostraron una capacidad inhibitoria diferencial. Mientras que la actividad antibacteriana contra las especies fitopatógenas *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* y *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* fue mayor en los sobrenadantes libres de células de *B. gladioli* BNM349, la actividad antifúngica contra *Macrophomina phaseolina* se observó mayormente en las membranas celulares de *B. ambifaria* BNM299 y *B. pyrrocinia* BNM345. Además, la fracción de membrana de la cepa BNM299 presentó una notable inhibición del crecimiento de *Fusarium graminearum*. Resultados preliminares en relación a la caracterización estructural por MALDI-TOF MS de los metabolitos bioactivos muestran una gran diversidad de masas moleculares en el rango de 700 a 3300 Da. Se propone avanzar en establecer las condiciones de producción óptimas y caracterización de los compuestos producidos por cepas del género *Burkholderia* con el fin de utilizarlos para el control biológico de enfermedades que afectan a cultivos de valor económico de la región.

BM14. Impacto de las nanopartículas de magnetita sobre *Bradyrhizobium japonicum*

De Valois, N. (1); Di Baggio Vega, E. (1); Zawoznik, M.S. (1); Groppa, M.D. (1,2); Iannone, M.F. (1,2)*

(1) Departamento de Química Biológica, Cátedra de Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) IQUIFIB (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina *correo electrónico: mflorencaiannone@gmail.com

La soja es una planta leguminosa de gran importancia agronómica; nuestro país es el primer exportador de sus productos procesados y el tercer exportador mundial del grano. El cultivo de soja establece asociaciones simbióticas con la bacteria *Bradyrhizobium japonicum*, esto le permite incorporar nitrógeno de la

atmósfera en los agrosistemas. Por tal motivo, se decidió estudiar los efectos de las nanopartículas (NPs) de magnetita sobre la bacteria *B. japonicum*. El efecto de diferentes concentraciones de NPs de magnetita (desde 1 hasta 50 ppm) sobre la multiplicación *in vitro* de *B. japonicum* fue estudiado mediante la técnica de microgota y se determinó la constante de crecimiento y el número de generaciones. El tratamiento de 10 ppm (NP10) mostró mayor tasa de crecimiento y número de generaciones; menor tiempo de duplicación respecto a los demás tratamientos. Por ello, se eligió dicha concentración de NP para continuar con los ensayos siguientes. Para evaluar si el efecto observado se debió a la NP en sí y no al agregado de Fe, los cultivos bacterianos fueron expuestos a 10 ppm de NPs de magnetita (NP10) o a la cantidad de Fe equivalente a la que provee la magnetita (Fe10) mediante un compuesto soluble, Fe-EDTA. Los resultados confirmaron que el hierro en tamaño NP (NP10) fue el responsable. Los rizobios producen polisacáridos extracelulares (PSE), tanto los exopolisacáridos liberados al medio (EPS), como aquellos adheridos a la superficie celular (CPS). La síntesis temprana de PSE es esencial para una simbiosis efectiva entre rizobios y leguminosas. El tratamiento NP10 produjo un incremento del 70% en el contenido de PSE, aumentó 4 veces el contenido de EPS e incrementó un 50% el contenido de CPS respecto al C. El tratamiento Fe10 provocó un aumento en el contenido de PSE menor que NP10 y esto se debió principalmente al incremento en el contenido de CPS. Se cuantificó el contenido de poli-hidroxibutirato (PHB) que es un compuesto de reserva cuando hay escasez de carbono extracelular. El tratamiento NP10 incrementó 7 veces este parámetro respecto al C y a Fe10. Se analizó la capacidad formadora de biofilm. El tratamiento NP10 duplicó este parámetro respecto al C y a Fe10. Se evaluó la supervivencia del rizobio en el medio de cultivo a diferentes tiempos (30, 45, 90, 120 días) conservados a 4°C o a 20°C de temperatura. Comparando los tratamientos bajo la misma temperatura de almacenaje, se observó que, tanto a 4°C como a 20°C, el tratamiento con NP presentó un incremento del 10% en la supervivencia bacteriana respecto al C y a Fe10. Estos resultados preliminares sugieren que las NPs de magnetita tendrían un efecto benéfico frente a *B. japonicum* ya que promueven la multiplicación *in vitro*, el contenido de PSE y de PHB. También estimulan la formación de biofilm y mejoran la viabilidad de los rizobios del inoculante. Por ello, las NPs podrían ser

incorporadas en la formulación de inoculantes para optimizar el uso de organismos benéficos en la agricultura.

BM15. Optimización de la nodulación de la soja por exposición bacteriana a nanopartículas de magnetita

De Valois, N. (1); Di Baggio Vega, E. (1); Gordon-Falconi, C. (2); Zawoznik, M.S. (1); Groppa, M.D. (1,2); Iannone, M.F. (1,2)*

(1) Departamento de Química Biológica, Cátedra de Química Biológica Vegetal, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CABA, Argentina. (2) IQUIFIB (UBA-CONICET), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. CABA, Argentina *correo electrónico: mflorencaiannone@gmail.com

En la era del cambio climático, los sistemas agrícolas mundiales se enfrentan a numerosos desafíos. Para lograr la seguridad alimentaria, la nanotecnología es una herramienta útil para impulsar la producción de cultivos y garantizar la sostenibilidad. El cultivo de soja se inocula con la bacteria *Bradyrhizobium japonicum* para incorporar nitrógeno atmosférico mediante fijación biológica de nitrógeno (FBN). El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de nanopartículas (NPs) de magnetita sobre esta simbiosis en búsqueda de formulaciones de inoculantes que garanticen una mayor eficiencia en términos de nodulación y FBN.

Las células bacterianas de *B. japonicum* (Control: C), o *B. japonicum* expuestas a 10 ppm de NPs de magnetita (NP10), o expuestas a la cantidad de Fe equivalente a NP10 provista por Fe – EDTA (Fe10), se cultivaron durante 5 días en un agitador rotatorio. Antes de la inoculación se ajustaron las UFC y posteriormente se dejaron las semillas en contacto con las suspensiones bacterianas (C, NP10 o Fe10) durante 12 horas. Las plantas inoculadas crecieron en macetas en cámara de crecimiento con riego periódico con agua. A los 20 y 30 días las plantas fueron descalzadas para realizar las determinaciones correspondientes.

A los 20 días, las plantas inoculadas con bacterias pretratadas con NP10 aumentaron la biomasa aérea un 40% respecto al C. A los 30 días de crecimiento

la longitud de la parte aérea y radical se incrementó un 20%; la biomasa aérea y radical se duplicó en los pretratamientos NP10 respecto al C. Los pretratamientos Fe10 no presentaron diferencias significativas. La superficie radical se duplicó a los 20 días y casi se triplicó a los 30 días de crecimiento en las plantas inoculadas con bacterias pretratadas con NP10, respecto al C. El contenido de clorofila mostró un aumento del 15% en los pretratamientos NP10 a los 20 y 30 días.

En el día 20, sólo las plantas inoculadas con bacterias pretratadas con NP10 tuvieron nódulos, mientras que a los 30 días se observaron nódulos en todos los tratamientos. En las plantas inoculadas con bacterias NP10 se duplicó el número y peso de los nódulos por planta respecto al C y a Fe10. Es sabido que un inoculante de calidad debe favorecer el desarrollo de nódulos en la raíz principal, hecho que fue observado sólo en los pretratamientos con NP10, los cuales presentaron nódulos grandes ubicados en la corona de la raíz, mientras que el C y el Fe10 se encontraron distribuidos en raíces laterales y fueron de menor tamaño. El contenido de leghemoglobina se incrementó 7 veces en los pretratamientos Fe10 y NP10, respecto al C.

Estos resultados indican que la incubación de bacterias en presencia de NP de magnetita mejora la nodulación y fijación biológica de nitrógeno. Asimismo, estimula el crecimiento de las plántulas y el contenido de clorofila. En este sentido, las NP de magnetita podrían convertirse en buenas candidatas para el diseño de nuevos productos para uso agrícola.

BM16. Optimización del escalado de la producción de un agente de biorremediación para el tratamiento de efluentes de curtiembre

Perotti, R.*; González, P.; Agostini, E.

Departamento de Biología Molecular, FCEFQyN, UNRC. Instituto de Biotecnología Ambiental y Salud, INBIAS-CONICET. Río Cuarto, Córdoba.*rperotti@exa.unrc.edu.ar

La necesidad de reducir la contaminación ambiental ha promovido el desarrollo de técnicas alternativas y eco-amigables para la remediación de efluentes industriales. Actualmente, se ha puesto interés en la formulación de aditivos

biológicos empleando cultivos mixtos para su aplicación en efluentes a los fines de acelerar el proceso de degradación de materia orgánica y de contaminantes. En estudios previos se logró formular un aditivo biológico compuesto por el consorcio SFC 500-1, que presenta elevada eficiencia para remediar Cr(VI), degradar compuestos fenólicos y reducir el contenido de materia orgánica de efluentes de curtiembre. Debido a que este aditivo constituiría una herramienta biotecnológica eficiente, el objetivo de este trabajo fue realizar el escalado de su producción y efectuar ajustes que conduzcan a optimizar el proceso.

El escalado se realizó en dos etapas. Inicialmente, se realizaron ensayos en Erlenmeyers empleando un diseño factorial cruzado con 6 tratamientos evaluando dos variables: agitación (100, 150 y 200 rpm) y temperatura (23 y 28°C). El crecimiento de los microorganismos se determinó mediante el recuento de células viables (UFC/ml) y DO600nm. Mediante un análisis de superficie de respuesta (RSM) se seleccionó la condición más favorable (150 rpm-28°C). En la segunda etapa se realizaron ensayos de producción de biomasa en un biorreactor de tanque agitado (capacidad de trabajo de 3 L), en las condiciones previamente seleccionadas, a pH 7 y presión de aire estéril de 0,1 atm. Empleando regresión lineal en fase exponencial se calcularon los parámetros cinéticos, tales como tasa de crecimiento específico (μ) y el tiempo de duplicación (t), obteniéndose los siguientes valores: $\mu=1,8 \text{ h}^{-1}$ y $t= 0,39 \text{ h}$, para los ensayos en Erlenmeyers y $\mu= 2.8 \text{ h}^{-1}$ y $t= 0,24 \text{ h}$, en los ensayos en biorreactor. El tiempo de duplicación (t) en biorreactor fue significativamente menor que el obtenido en Erlenmeyer ($p \leq 0,05$), demostrando que el proceso de optimización de las condiciones de cultivo conduce a obtener mejores resultados en menor tiempo.

El desarrollo de bioproductos completamente nuevos, amigables con el ambiente y económicamente rentables, requiere de bioprocesos optimizados para satisfacer las demandas tanto tecnológicas como económicas. En este trabajo se empleó la técnica de análisis gráfico RSM y los resultados obtenidos fueron satisfactorios tanto en la producción de biomasa, como en el tiempo necesario para dicha producción, lo que se traduce en un sistema productivo de inóculo más económico.

BM17. Bioprocesos para la biorremediación de aguas contaminadas utilizando microalgas autóctonas

Trentini, A. G. (1)*; Teruel Ortiz, F. (2); Marconi, P. L. (1).

(1) CONICET, CEBBAD-Univ. Maimónides, Argentina. (2) CEBBAD-Univ. Maimónides, U. Favaloro, Argentina. * andretrentini.89@gmail.com

Las microalgas son universalmente conocidas como importantes en procesos de purificación natural del agua. En nuestro laboratorio, realizamos estudios de biorremediación utilizando una microalga autóctona, *Chlorella vulgaris* cepa LMPA-40, y muestras de agua del Arroyo Cildañez (AoC). Este arroyo pertenece a La Cuenca Matanza-Riachuelo (Buenos Aires, Argentina) siendo uno de los ambientes acuáticos más contaminados del país.

Los bioprocesos son conducidos en condiciones autotróficas (fotoperíodo de 16 h, luz PAR a 14,000k, 400 $\mu\text{mol photon/ m}^2 \text{ /s}$) a $24 \pm 2^\circ\text{C}$ utilizando biorreactores de tanque agitado (Infors HT) provisto de hélice marina a 100 rpm y burbujeo de aire por sparger, durante 6 días. Los cultivos de la microalga se realizan en suspensión o inmovilizadas en perlas de alginato.

En cada bioproceso se evalúa crecimiento, remoción de N, P y metales pesados, proteínas totales y lípidos totales y principales especies de microorganismos patógenos y su concentración. Por último, se realizaron ensayos de citotoxicidad y genotoxicidad con semillas de *Allium cepa*.

El perfil de las curvas obtenidas para la cinética de crecimiento en medio MS o en AoC fueron similares. Sin embargo, la inmovilización de las microalgas favoreció su crecimiento reflejado en el aumento de la velocidad específica de crecimiento (μ : 0,744 d⁻¹) y disminución del tiempo de duplicación (0,93 d) de las microalgas al realizar el tratamiento con AoC respecto al cultivo con Medio Sintético (MS) (μ : 0,562 d⁻¹, td: 1,2 d). En cuanto a los parámetros físico-químicos, también se observa mayor eficiencia con los cultivos inmovilizados. Se vio una disminución en la concentración de nitritos (98%), nitrógeno amoniacal (96 %), P total (89%) y Pb (95%) luego del tratamiento con microalgas inmovilizadas cultivadas en AoC. La concentración de P total en estas muestras suele ser muy elevadas (761 mg/L),

lo que favorece la formación de biomasa en detrimento de otros parámetros del metabolismo primario. Así, la concentración de lípidos totales varía entre 4.25% y 0.8% mientras que el mismo parámetro con cultivos creciendo en medio MS es del doble (9.25%). El porcentaje de proteínas totales varió entre 22,6% y 10% en los cultivos con microalgas inmovilizadas creciendo en AoC, mientras que fue mayor en MS (55.4%).

El análisis bacteriano mostró la presencia de cinco diferentes fenotipos de colonias en muestras AoC sin tratar, que se redujo a 3 luego de los bioprocesos. Además, se contabilizó una reducción de la población de bacterias patógenas (*Escherichia coli*, >98% y coliformes totales, >98%).

Por último, la tasa de germinación e índice mitótico de las semillas de cebolla germinadas en AoC luego de los bioprocesos fue similar a la observada en semillas germinadas con agua destilada (control) y significativamente mayor que AoC previo al tratamiento de biorremediación. Estos parámetros muestran la capacidad de biorremediar el agua luego de los tratamientos con las microalgas inmovilizadas.

BM18. Caracterización de cepas autóctonas de *Streptomyces* como potenciales agentes de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal

Villafañe, D.L. (1)*; Gramajo, H.(1); Chiesa, M.A. (2); Rodríguez, E.J. (1).

(1) Departamento de Microbiología, FCByF-UNR; IBR-CONICET. Ocampo y Esmeralda S/N, 2000 Rosario, Santa Fe, Argentina. (2) LEFIVE-IICAR-CONICET/UNR. Pque. Villarino S/N, 2125 Zavalla, Santa Fe, Argentina.

*villafane@ibr-conicet.gov.ar

La utilización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal ha demostrado ser una alternativa sustentable en comparación con la aplicación de agroquímicos en la agricultura. Los microorganismos benéficos pueden ser capaces de estimular el crecimiento y desarrollo vegetal a través de mecanismos de promoción directa o mediante la mejora del estado fitosanitario al suprimir potenciales patógenos y/o

inducir el sistema de defensa de la planta. Esto es conocido como control biológico y actualmente es una estrategia explorada para controlar enfermedades que afectan a diversos cultivos. Las bacterias del género *Streptomyces*, son conocidas por producir una amplia gama de compuestos naturales, entre ellos antifúngicos. No obstante, su rol benéfico en plantas ha comenzado a estudiarse recientemente. El objetivo del presente trabajo consiste en caracterizar cepas de *Streptomyces* aisladas a partir de plantas de soja [*Glycine max* (L.) Merr] para su potencial aplicación como agentes de control biológico y promotoras del crecimiento vegetal. Así, 78 bacterias pertenecientes al género *Streptomyces* fueron aisladas a partir de la rizósfera y plantas de soja de la zona sojera núcleo de Argentina (Zavalla, Santa Fe). El 50 % de los aislamientos mostraron compatibilidad con *Bradyrhizobium japonicum* y éstos fueron analizados para determinar su actividad frente a diversos hongos fitopatógenos de gran impacto sobre el cultivo de la soja como *Macrophomina phaseolina*, *Diaporthe caulivora* y *D. aspalathi*, entre otros. Las 12 cepas que mostraron mayor efecto antagónico frente a los hongos mencionados fueron analizadas en ensayos *in vitro* para evaluar su potencial como promotoras del crecimiento vegetal. Se evaluó: (i) producción de hormonas vegetales como el ácido indol-3-acético (AIA), (ii) producción de sideróforos y (iii) solubilización de fosfato inorgánico. Los resultados obtenidos permitieron demostrar que las 12 cepas son capaces de producir niveles altos de AIA y sideróforos, mientras que al menos cuatro de ellas mostraron altos índices de solubilización de fosfato inorgánico. Este estudio permitió comprobar de forma *in vitro* la capacidad de las cepas aisladas como potenciales agentes de control biológico y promotoras de crecimiento vegetal. A partir de estas cepas seleccionadas en base a los resultados *in vitro* podremos continuar con los ensayos de biocontrol y promoción de crecimiento vegetal en plantas de soja en ensayos en condiciones de invernadero y posteriormente a campo.

BM19. Desarrollo de una vacuna recombinante contra la coccidiosis aviar

Britez, J.D. (1,2); Rodriguez, A.E. (1); Tomazic, M.L. (1,3)*.

(1) Instituto de Patobiología Veterinaria, INTA-CONICET. Hurlingham, Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias. Cátedra de Microbiología. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Biotecnología, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. [*tomazic.mariela@inta.gob.ar](mailto:tomazic.mariela@inta.gob.ar)

La producción avícola enfrenta nuevos desafíos como el aumento proyectado de la demanda, la seguridad alimentaria y el impacto ambiental, los cuales en el nuevo escenario post-pandémico adquieren mayor relevancia. La coccidiosis aviar es una parasitosis intestinal altamente contagiosa, causada por un protozoo del género *Eimeria* que causa grandes pérdidas económicas e incide negativamente en la productividad, la cual se requiere aumentar de forma sustentable. Su control abarca: buenas medidas de manejo, quimioprofilaxis y/o vacunas vivas con especies del parásito. La utilización de drogas anticoccidiales está siendo globalmente limitada. Si bien la vacunación contra la coccidiosis es efectiva, posee un elevado costo, entre otras desventajas de las vacunas vivas. Por lo tanto, la generación de tecnologías que minimicen el impacto ambiental (como la utilización de anticoccidiales de origen natural o vacunas recombinantes) son una inminente demanda para el sector avícola nacional en Argentina. Existen 7 especies reconocidas que infectan distintos sitios del intestino de las aves de corral y poseen diferente patogenicidad. Por lo tanto, el impacto productivo, la mortalidad, o el tratamiento varían dependiendo de las especies involucradas. Recientemente, el grupo de trabajo realizó una caracterización preliminar de epidemiología molecular que reveló la circulación de 6 de las 7 especies de *Eimeria* donde *E. acervulina* y *E. tenella* son las más frecuentes, siendo la última una de las más patogénicas.

El objetivo de esta línea de trabajo se centra en generar estrategias novedosas de control contra un parásito omnipresente en la avicultura. Se focalizará en: la caracterización de antígenos de *E. tenella* y *E. acervulina*; el estudio de la susceptibilidad del huésped; y el desarrollo de una vacuna recombinante efectiva contra la eimeriosis aviar. La metodología consiste en el desarrollo de una estrategia bioinformática para la selección de los candidatos más aptos de ambas

especies; el estudio del polimorfismo de genes preseleccionados a partir de distintos aislamientos geográficos, la expresión recombinante de los genes más conservados y la evaluación de la inmunogenicidad; desafíos con coccidios para evaluar la respuesta inmune *in vivo* de dos líneas de aves comerciales; la expresión de los candidatos vacunales en una nueva plataforma eucariota; y la evaluación de su efecto protectorio.

Esta línea aportará a la acción integral para el control de esta parasitosis que se inicia en el conocimiento de las especies circulantes, óptimas medidas de bioseguridad y la utilización de compuestos anticoccidiales naturales. La generación de conocimiento y los resultados esperados conducirán al desarrollo de una vacuna recombinante, más económica, que mejoraría la seguridad alimentaria y la protección del medio ambiente, proporcionando una solución innovadora para un desafío social que se enmarca en el enfoque «Una Salud».

BM20. Evaluación del efecto antifúngico de matrices metabólicas de *Ganoderma lucidum* sobre *Pseudocercospora fijiensis* Morelet, agente causal de la Sigatoka Negra a nivel *in vitro*

Restrepo, Y.P.*; Sepúlveda, L.J.; Romo, R.J.; Areiza, D.E.; Mosquera, A.; Atehortúa, L.

Universidad de Antioquia, Grupo de Biotecnología, Sede de Investigación Universitaria. Carrera 53 # 61-30 Torre 1 Laboratorio 210, Medellín – Colombia.

*ypaola.restrepo@udea.edu.co

El banano es una de las frutas más apetecidas y consumidas a nivel mundial, se estima una producción promedio anual de 145 millones de toneladas. Sin embargo, su cultivo ha sido gravemente afectado por la incidencia de diferentes enfermedades, dentro de las que se destaca la Sigatoka Negra, ocasionada por el hongo *Pseudocercospora fijiensis*. Esta enfermedad foliar causa enormes pérdidas a los productores debido a la maduración prematura de sus frutos y a la disminución de la calidad de estos. El manejo de la enfermedad ha estado permeado por el uso intensivo de fungicidas químicos, que han ocasionado que *P. fijiensis* adquiera una notable resistencia contra estos, intensificando dosis y

frecuencias de aplicación de estas moléculas en campo; que generan efectos secundarios irreversibles en el ambiente y la salud humana. Debido a lo anterior, es necesario la búsqueda de nuevas moléculas con capacidad antifúngica que sean amigables con el medio ambiente, que mejoren la productividad y la sanidad de los cultivos. El objetivo de este estudio fue evaluar la acción antifúngica a nivel *in vitro* de diferentes matrices metabólicas obtenidas a partir del cultivo sumergido de *Ganoderma lucidum* sobre *P. fijiensis*. La metodología abarcó un establecimiento del cultivo sumergido en diferentes fuentes de carbono a base de harinas cereales para el crecimiento de *G. lucidum*; el medio extracelular, el extracto intracelular obtenido del rompimiento de la biomasa y la extracción de la fracción lipídica rica en ácidos ganodéricos, fueron las matrices metabólicas seleccionadas para determinar el potencial antifúngico. Tanto el medio extracelular como el extracto intracelular tienen la capacidad de inhibir el desarrollo micelial de *P. fijiensis* a nivel *in vitro*, teniendo un efecto antifúngico que varía entre el 41% y el 83% en los medios extracelulares y entre el 27% y el 85% en el extracto intracelular, lo anterior se podría atribuir a la fuente de carbono utilizada en el cultivo del hongo medicinal, la cual a partir de su composición puede estimular la producción diferencial de enzimas, péptidos y/o otras biomoléculas con acción antifúngica. Respecto a las fracciones orgánicas ricas en ácidos ganodéricos, se determinó por medio de ensayos de microdiluciones que a una concentración de 200 ppm hay una inhibición del 76%, mientras que a una concentración de 300 ppm ya no se observa el crecimiento del hongo fitopatógeno. Si bien se obtuvo resultados prometedores con las matrices crudas, es pertinente realizar una caracterización de estos extractos metabólicos, con el fin de dilucidar las biomoléculas responsables de la actividad antifúngica reportada en este estudio. Esta investigación abre la posibilidad de una alternativa biotecnológica con alto potencial para diversificar el tipo de moléculas que podrían ser empleadas para el manejo de la Sigatoka Negra en cultivos de musáceas, con el fin de reducir o sustituir el uso de fungicidas químicos que son altamente contaminantes.

BM21. Evolución dirigida de toxinas de *Bacillus thuringiensis* para el control del picudo del algodón (*Anthonomus grandis*) mediante la técnica de phage display

Pérez, M.P.* (1,2); Sauka, D.H. (2,3); Benintende, G.B. (2); Berretta, M.F. (2,3).

(1) Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación (Agencia I+D+i), Argentina. (2) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), INTA, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

*perez.melisa@inta.gob.ar

El cultivo de algodón es perjudicado por diversas plagas, siendo el picudo del algodono, *Anthonomus grandis* B. (Coleóptera: Curculionidae), uno de los insectos que mayores daños provoca en Argentina. Su control está asociado principalmente al uso de insecticidas químicos, por lo cual la utilización de genes insecticidas de la bacteria entomopatógena *Bacillus thuringiensis* para la generación de una variedad transgénica resistente a la plaga, podría constituir una alternativa de control ambientalmente sostenible. En trabajos previos se ha observado que *A. grandis* presenta baja susceptibilidad a toxinas Cry nativas producidas por *B. thuringiensis*. Para incrementar su toxicidad contra larvas del picudo se propone modificar dichas proteínas mediante evolución dirigida. La estrategia utilizada en este trabajo se centra en la utilización de una biblioteca de péptidos de secuencia arbitraria expresada en fagos, para seleccionar péptidos con capacidad de unirse a receptores de proteínas Cry en el intestino de *A. grandis*. Los péptidos seleccionados serán utilizados para modificar secuencias que corresponden a loops en la estructura de toxinas Cry nativas de tres dominios, que participan en la unión al receptor, y determinan su especificidad. En otros casos, se ha reportado que el aumento de la capacidad de unión de proteínas Cry a sus receptores, determina un incremento de su toxicidad.

La tecnología de expresión en fagos (phage display) aplicada a péptidos, consiste en la expresión de un péptido en la superficie de un fago, mediante la fusión de la secuencia nucleotídica que codifica para el péptido a expresar con el gen de una proteína de cubierta del fago. Mediante un screening basado en un proceso de selección por afinidad denominado “biopaneó”, la población de fagos que expresan una biblioteca de péptidos de secuencia arbitraria, es enfrentada al blanco de interés a fin de capturar selectivamente los fagos de unión específica. En este trabajo se muestran resultados parciales del biopaneó de una biblioteca

comercial de péptidos, fusionados en posición N-terminal a la proteína pIII de la cápside de un fago derivado del M13, contra vesículas de membrana del intestino (BBMVs) de larvas del picudo. Para la primera ronda de biopaneos, las BBMVs (20 µg de proteína) se enfrentaron al pool de fagos (10E11 pfu), y luego de sucesivos lavados, los fagos unidos fueron eluidos y amplificados mediante infección de la cepa ER2738 de *E. coli*. El stock resultante fue titulado para continuar con sucesivas rondas de biopaneo. Se recuperaron varios clones, los cuales fueron secuenciados. Para identificar clones que se amplifiquen selectivamente debido a su especificidad de unión a receptores en las BBMVs, se analizarán clones aislados a partir de nuevas rondas de biopaneo. Los resultados obtenidos a partir de la optimización de esta metodología nos permitirán disponer de secuencias de péptidos candidato para modificar la secuencia de proteínas Cry nativas.

BM22. Desarrollo de tensioactivos catiónicos derivados de aminoácidos con actividad biocida y potencial aplicación para el control de bacterias y levaduras

Prat, A.; Grillo, P.D.; Di Santo Meztler, G.P.; Fait, M.E.; Morcelle, S.R.*

Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIProVe-UNLP-Centro Asociado CICPBA), Argentina. *morcelle@biol.unlp.edu.ar

Los surfactantes (también llamados tensioactivos) son uno de los ingredientes más empleados en la industria farmacéutica. Entre ellos, los derivados de aminoácidos (TAA) constituyen una importante clase de moléculas biocompatibles, con excelentes propiedades de adsorción y agregación, alta biodegradabilidad, baja toxicidad, bajo impacto ambiental y actividad antimicrobiana de amplio espectro. A diferencia de los antibióticos convencionales, cuyo objetivo generalmente son enzimas o procesos metabólicos específicos, la acción antimicrobiana de los TAA catiónicos resultaría de su interacción con las membranas y otros componentes celulares. Estas interacciones pueden considerarse lo suficientemente inespecíficas como para impedir el desarrollo de resistencia y, por lo tanto, estos compuestos resultan una alternativa interesante para el control microbiano. Así, la multifuncionalidad de los

TAA los convierte en potenciales aditivos para formulaciones cosméticas y farmacéuticas, permitiendo el desarrollo de productos más simples y la reducción de los costos.

Nuestro grupo de investigación se ha dedicado a la obtención de TAA monocatenarios mediante estrategias biocatalíticas, incluyendo la caracterización fisicoquímica y biológica de los productos obtenidos. En particular, aquellos derivados de arginina han demostrado una excelente actividad antimicrobiana de amplio espectro, manifestando una eficacia de hasta el 99.99% en la reducción de la carga bacteriana.

Las comunidades microbianas suelen encontrarse naturalmente formando biofilms, lo que las hace más tolerantes a la acción de los TAA. Por eso, actualmente estamos estudiando el efecto de los TAA sobre etapas tempranas de la formación de biofilms de bacterias y levaduras. Nuestro trabajo ha involucrado tanto el análisis de la actividad biocida de los TAA sobre cultivos planctónicos como la determinación de las concentraciones inhibitorias mínimas de biofilms y las concentraciones de erradicación de los mismos en microplacas de poliestireno. También se contempla evaluar el efecto de los TAA sobre la adherencia de biofilms sobre superficies inertes.

Los avances en el estudio del mecanismo de acción de estos tensioactivos asimismo nos permitirán entender la relación entre su actividad biocida y su interacción con las membranas microbianas y otros componentes celulares. En este sentido, contamos con múltiples proyectos y trabajos de tesis doctorales en marcha que se centran en el estudio y aplicación de este tipo de compuestos en diversas áreas de la cosmeceútica y la microbiología. Los resultados obtenidos hasta el momento nos abren un abanico de horizontes a explorar en relación al desarrollo de nuevas moléculas multifuncionales. Los estudios de sinergismo de nuestros compuestos con otras moléculas de aplicación en el área de la salud y la evaluación de la citotoxicidad resultarán claves para la definición de aplicaciones concretas, plausibles de transferir al sector industrial y farmacéutico.

BM23. Microorganismos con capacidad degradadora de hidrocarburos aislados de un suelo de Tierra del Fuego crónicamente contaminado con petróleo

González, M. (1)*; Vázquez, S. (2); Gutiérrez, M.C. (1); Busto, V. (1,2); Ruberto, L. (2).

(1) CTQ-UTN-FRBA, Argentina. (2) NANOBIOTEC-FFyB-UBA, Argentina.

*monik104@hotmail.com

Las técnicas de biorremediación han demostrado ser eficaces para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo (HCs). Entre estas se encuentra el bioaumento, que consiste en aumentar la población de microorganismos de un suelo contaminado introduciendo cepas o consorcios previamente aislados y seleccionados de acuerdo con sus capacidades para degradar los contaminantes. En este trabajo se realizó el aislamiento e identificación de microorganismos presentes en un suelo contaminado de la provincia de Tierra del Fuego y se evaluó su capacidad degradadora de diferentes HCs. Inicialmente se realizó el recuento (UFC/g) de bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH) a partir de 1 g de suelo contaminado en placas conteniendo agar gasoil (AGO). De estas placas se seleccionaron colonias con diferente tipo de crecimiento, coloración y textura, las cuales fueron re-sembradas en AGO y nombradas arbitrariamente, verificándose su pureza por desarrollo en agar nutritivo a mitad de concentración. Los aislamientos se caracterizaron por coloración de Gram y observación microscópica, pruebas bioquímicas (utilización de glucosa, utilización de citrato, presencia de enzimas citocromo-c-oxidasa y movilidad), y se identificaron mediante la secuenciación parcial del gen ARNr 16S (bacterias) o de la región D1/D2 del gen ARNr 26S (hongos) y comparación con secuencias homólogas de cepas tipo depositadas en bases de datos especializadas. Además, se evaluó su capacidad de crecer en medio líquido en presencia de gasoil, dodecano o hexadecano como única fuente de carbono y energía, utilizando el colorante redox 2,6-dichlorophenol indophenol (DCPIP) como indicador de crecimiento. El recuento de BDH fue de $1,46 \times 10^5$ UFC/g de suelo y se lograron aislar un total de 11 colonias con diferente morfotipo, cuya tinción de Gram mostró que diez correspondían a bacterias Gram negativas (PBR-1 al 10) y una a un hongo micelial (PBR-11). De los 11 aislamientos, dos se identificaron como *Achromobacter* sp. (PBR-7 y 8), ocho como *Pseudomonas* sp. (PBR-1 al 6, 9 y 10) y el hongo como *Cadophora* sp. (PBR-11). Los aislamientos

bacterianos resultaron no fermentativos para glucosa y positivos para oxidasa, movilidad y citrato, con excepción de los aislamientos de *Achromobacter*, que fueron negativos para citrato. Los aislamientos de *Pseudomonas* se separaron en tres grupos: los que solo crecieron con gasoil (PBR-4, 5, 9 y 10), los que además crecieron con dodecano (PBR-1, 3 y 6) y un único que creció con gasoil, dodecano y hexadecano (PBR-2). Los aislamientos de *Achromobacter* serían cepas diferentes ya que solo uno de ellos (PBR-8) pudo crecer con dodecano. Finalmente, el hongo *Cadophora* sp. PBR-11 fue capaz de crecer con gasoil y con dodecano, aunque no con hexadecano. Estos aislamientos constituyen una valiosa colección de microorganismos nativos degradadores de HCs que podrían emplearse en estrategias de bioaumento para remediar suelos contaminados de Tierra del Fuego.

BM24. Respuestas fisiológicas de materiales de soja en simbiosis con micorrizas bajo estrés por sequía

Menduni, M.F. (1); Salloum, M.S. (1); Luna, C.M.; Monteoliva, M.I. (2); Guzzo, M.C. (2)*.

(1) Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. (2) Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales “Victorio S. Trippi” – Unidad de Estudios Agropecuarios (IFRGV-UDEA, INTA-CONICET), Córdoba, Argentina. *guzzo.carla@inta.gob.ar

Uno de los mayores desafíos de la agricultura actual es garantizar la productividad de los cultivos en el contexto del cambio climático. En particular, es clave encontrar estrategias para mitigar las pérdidas ocasionadas por la sequía. Una posibilidad es desarrollar tecnologías para aprovechar los beneficios de las simbiosis con microorganismos presentes en los suelos, como las micorrizas arbusculares o endomicorrizas. Las endomicorrizas son simbiotes obligados que interactúan con el 80% de las especies de plantas vasculares y están presentes en los suelos de todo el mundo. En el caso de las plantas, esta simbiosis presenta numerosos beneficios, desde mejoras en el crecimiento y absorción de nutrientes, hasta incremento de la tolerancia al estrés por la sequía. El objetivo de nuestro

trabajo fue comparar las respuestas morfológicas y bioquímicas inducidas por la simbiosis con micorrizas en tres genotipos de soja expuestos a sequía. Como fuente de micorrizas se utilizó un inóculo mixto, proveniente de campos agrícolas cultivados con soja. Como material vegetal, se utilizaron dos materiales de soja comerciales (ADM 50048, A 5009 RG) una introducción, no comercial (PI90768). En el caso de los materiales comerciales, tienen respuestas previamente caracterizadas a la sequía (ADM 50048 considerada es sensible y A 5009 RG es más tolerante) y con distinto grado de interacción con micorrizas (ADM 50048 es menos colonizada que A 5009 RG y PI90768). Las plantas fueron crecidas en cámaras de crecimiento (con periodo de luz:oscuridad 16h:8h, temperatura 28 ± 3 °C). La sequía se implementó por suspensión del riego hasta llegar al 30% de la capacidad de campo. Al alcanzar el 30%, el contenido relativo de agua foliar de los tres materiales disminuyó significativamente, pero en menor grado en A 5009 RG y PI90768. Bajo estrés, la presencia de las micorrizas incrementó el contenido de clorofilas y prolina, indicando un incremento en la respuesta de tolerancia de los materiales (activación de la respuesta osmótica y protección de las clorofilas), que se reflejaron también en una mayor área foliar. Estos resultados sustentan la posibilidad de proteger la diversidad de las micorrizas en los suelos agrícolas como una estrategia sustentable para mitigar las pérdidas ocasionadas por la sequía estacional. Además, refuerzan la idea de implementar programas de mejoramiento genético (asistido o no por herramientas biotecnológicas) que contemplen la selección de cultivares que sean más capaces de obtener beneficios de los microorganismos benéficos.

BM25. Aislamiento y caracterización morfológica de bacterias del género *Bradyrhizobium* provenientes de parcelas agrícolas del Chaco central paraguayo

Ferreira, L.M. (1); Arenas, M.R. (2), Nakayama, H.D. (2)*

(1) Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas (FCQ-UNA). (2) Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT-UNA) *hnakayama@rec.una.py

La soja (*Glycine max*) es una legumbre con alto contenido de proteínas y ácidos grasos de gran importancia a nivel industrial y en la alimentación tanto humana como animal; requiere una cantidad importante de nutrientes como el nitrógeno, el cual es un elemento que debe pasar a su forma inorgánica (NO_3^- y NH_4^+), para ser aprovechada por la misma, mediante la fijación biológica de nitrógeno llevada a cabo por bacterias pertenecientes al género *Bradyrhizobium*. Son conocidas como rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) y son la base de productos agrobiotecnológicos denominados inoculantes agregados a los cultivos para estimular el crecimiento y productividad. El objetivo de este trabajo fue aislar y caracterizar morfológicamente bacterias del género *Bradyrhizobium* noduladoras de *Glycine max* provenientes de parcelas agrícolas de la localidad de Loma Plata en el Chaco central paraguayo. Se realizó un estudio descriptivo a partir de aislados, obtenidos de nódulos radiculares de cultivo de plantas trampa, evaluadas en el laboratorio de Biotecnología del CEMIT. Resultaron no absorber el colorante rojo congo en el medio 79, con crecimiento a los 6 días y colonias circulares de 1 mm de diámetro, rosáceas, convexas, translúcidas, de textura granulosa y consistencia mucosa, además de ser productoras de álcali. La tinción de Gram validó la morfología bacteriana característica de bacilo Gram negativo. Los aislados pueden ser utilizados en un programa de desarrollo de biofertilizantes para el Chaco central árido.

BM26. Aislamiento de *Pseudomonas fluorescens* de zonas agrícolas de Paraguay

Mussi Cataldi, C.; Ferreira, R.; Nakayama Nakashima, H.*

Universidad Nacional de Asunción, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Laboratorio de Biotecnología. hnakayama@rec.una.py

En el Paraguay, el fósforo se presenta como el nutriente más limitante para el desarrollo de los cultivos. Este elemento se encuentra por debajo del nivel crítico en la mayor parte de nuestros suelos y los fosfatos inorgánicos adicionados en forma de fertilizantes químicos son rápidamente inmovilizados. Una solución a este problema es la utilización de poblaciones adaptadas de microorganismos

solubilizadores de fósforo. En base a esta problemática se planteó el objetivo de aislar *Pseudomonas fluorescens* de zonas agrícolas de Paraguay. Fueron tomadas muestras de suelo de las zonas agrícolas más importantes del país, las mismas fueron refrigeradas y transportadas al Laboratorio de Biotecnología del CEMIT-UNA para su procesamiento. Fueron aislados microorganismos mediante plantas trampa, de la maceración de raíces y de la rizósfera de las mismas. Las muestras fueron suspendidas en solución salina estéril en una serie de diluciones para la posterior inoculación en placas de *petri* con medio selectivo S1. Las placas fueron incubadas 48 horas a 30°C. Posteriormente, fueron seleccionadas al azar las colonias de distintos fenotipos que exhibieron fluorescencia al ser sometidas a luz UV. Dichas colonias fueron subcultivadas sucesivamente en medio S1 para su purificación. Se obtuvieron 11 aislados, diferenciados mediante la pigmentación fluorescente de las colonias expuestas a luz UV, tinción de Gram (-) y observación de la morfología al microscopio. Las células bacterianas eran de tipo bacilos, rectos o ligeramente curvados, con varios flagelos polares. El siguiente paso de esta investigación contempla la ejecución de ensayos de efectividad *in vitro* para la solubilización de fósforo y pruebas a campo para la selección de aislados con los que se desarrollarán biofertilizantes.



Biotecnología Vegetal

Biotecnología Vegetal

BV1. La sobre-expresión del factor de transcripción Ha-NAC01 de girasol promueve la senescencia foliar en plantas transgénicas de petunia

Astigueta, F.H. (1); Hurtado, C. (2); Moschen, S. (3); Heinz, R.A. (1,5); Fernández, P. (1,5)*#, Trupkin, S.A. (1,4)*#.

(1) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. (2) Escuela de Ciencia y Tecnología, UNSAM, Argentina. (3) Estación Experimental Agropecuaria Famaillá, INTA, Argentina. (4) Instituto de Floricultura, INTA, Argentina. (5) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET, Argentina. #Ambos autores contribuyeron en igual proporción.

*trupkin.santiago@inta.gob.ar; fernandez.pc@inta.gob.ar

La senescencia foliar es el último estadio del desarrollo foliar que se caracteriza por una declinación de la actividad fotosintética, la activa degeneración de las estructuras celulares, y el reciclado de nutrientes hacia otros órganos. Las señales desencadenantes del proceso pueden ser tanto endógenas como exógenas. En hojas senescentes, muchos genes asociados a la senescencia se hallan mayoritariamente sobre-expresados. En particular, la familia de factores de transcripción NAC presenta una gran proporción de miembros que cambian su expresión durante el avance de la senescencia foliar en *Arabidopsis*. El grupo de trabajo ha identificado varios genes NAC en girasol que aumentan su expresión conforme avanza la senescencia. Entre ellos, Ha-NAC01, un putativo ortólogo del promotor de la senescencia en *Arabidopsis*, AtORE1. Debido a las dificultades inherentes a la transformación estable en girasol, se evaluó la función de Ha-NAC01 a través de la generación de plantas transgénicas de *Petunia axillaris*, una especie fácilmente transformable. Análisis fisiológicos y moleculares revelaron que la sobre-expresión de Ha-NAC01 acelera la senescencia foliar en petunia, posiblemente mediante la inducción de genes asociados a la senescencia como PaBFN1 y PaSAG12. Además, las líneas de sobre-expresión de Ha-NAC01 presentaron una disminución en su tasa fotosintética, menor biomasa aérea y una

fase vegetativa más extensa en comparación con plantas salvajes. En resumen, Ha-NAC01 actúa como un regulador positivo de la senescencia foliar en petunia, de manera similar a como lo hace AtORE1 en *Arabidopsis*, sugiriendo que Ha-NAC01 podría actuar como un regulador positivo en la senescencia foliar de girasol.

BV2. Tecnología de silenciamiento génico para resistencia al picudo en el algodón: resultados preliminares en la generación T1

Maskin, L. (1)*; Turica, M. (1); González, A. (2); Klein, L. (2); Spoljaric, M. (2); Tcach, M. (2); Niz, J. (3); Pedarros, A. (3); Salvador, R. (3); Hopp, E. (4); Lewi, D. (1).

(1) Instituto de Genética Ewald A. Favret, CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria, Sáenz Peña, CR Chaco-Formosa, INTA, Argentina. (3) Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola, CICVyA, INTA, Buenos Aires, Argentina. (4) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas y Lab de Agrobiotecnología DFBMC, FCEyN-UBA, Buenos Aires, Argentina.

*maskin.laura@inta.gob.ar

Las plantas transgénicas ofrecen oportunidades únicas para controlar las poblaciones de plagas; sin embargo, la transformación exitosa depende, entre otras cosas, de la herencia del gen de interés a la progenie. En el marco del Convenio de Vinculación Tecnológica INTA-Provincias, nuestro objetivo principal ha sido la puesta a punto de un sistema eficiente de transformación de plantas de algodón. En este contexto, hemos obtenido vía *Agrobacterium tumefaciens*, plantas transgénicas portando una construcción para silenciar el gen de la alfa-amilasa del intestino del picudo del algodonoero, la mayor plaga de este cultivo en nuestra región. En la actualidad contamos con al menos tres eventos independientes (T0) de algodón (*Gossypium hirsutum*) portando el gen de interés, los cuales son los primeros de una serie proyectada con diferentes construcciones

para el control de esta plaga. Al evaluar el desarrollo de esta T0, se observó que dos de los eventos fueron de fenotipo normal y uno fuera de tipo.

Posteriormente, para analizar el desarrollo y fenotipo de la siguiente generación, las semillas de uno de estos eventos fueron germinadas; las plantas T1 obtenidas resultaron ser completamente normales. Asimismo, se verificó por PCR la presencia del transgen en esta generación. Si bien las dificultades atravesadas en el 2020 nos han limitado el avance en cuanto a la información molecular de estos individuos, el análisis de este ilimitado número de plantas nos permite confirmar la heredabilidad del gen de interés en esta generación. Por otro lado, el normal desarrollo de las plantas T1 en dos invernáculos de bioseguridad diferentes, con condiciones distintas de temperatura y humedad, nos ha permitido comenzar a cosechar la T2, reforzando la posibilidad de multiplicar este evento tanto para lograr volumen de semilla para su posterior análisis como para avanzar en las sucesivas generaciones.

BV3. Caracterización de metalotioneínas de algas para su uso en biorremediación de metales pesados

Burdisso, M.L. (1)*; Petrich, J. (1).; Palacios, O. (2); Albalat, R. (3); Capdevila, M. (2); Gomez-Casati, D.F. (1); Pagani, M.A. (1).

(1) CEFOTI-CONICET. FCByF-UNR, Rosario, Argentina. (2) Facultat de Química, UAB, Bellaterra, España (3) Facultat de Biologia, UB, Barcelona, España.

*burdisso@cefobi-conicet.gov.ar

Las metalotioneínas (MTs) constituyen una superfamilia grande y heterogénea de proteínas citosólicas de baja masa molecular compuestas por alrededor de 30-100 aminoácidos. Se caracterizan por un alto contenido de residuos de cisteína (Cys) localizados en motivos CC, CxC y CxxC altamente conservados. Esto les confiere una gran capacidad para coordinar iones metálicos mono o divalentes a través de enlaces metal-tiolato, constituyendo así clusters metálicos. Las MTs suelen ser la principal respuesta primaria de los organismos frente a un aporte de tipo/dosis inadecuado de metales pesados, operando mediante quelación e inmovilización.

En el caso de las algas sólo se han encontrado y caracterizado MTs de dos especies. Considerando la ubicua presencia de MTs en todos los organismos eucariotas, resulta extraño que no se hayan identificado estas proteínas en un mayor número de algas, siendo estas especies altamente resistentes a metales, y con una gran capacidad de acumularlos. En este trabajo utilizamos diferentes enfoques bioinformáticos para descubrir nuevas MTs de algas. Nuestros objetivos son establecer relaciones filogenéticas entre MTs de los diferentes taxones de algas y caracterizar algunas de ellas para su uso en la biorremediación de metales pesados.

Identificamos 124 secuencias potenciales de MTs de algas, correspondientes 26 a *Chlorophytas*, 51 a *Rodophytas* y 47 a *Ochrophytas*. Las estructuras de MTs algales son muy heterogéneas. La mayoría de las estructuras primarias de MTs de *Rodophytas* y *Ochrophytas* son similares a las de plantas superiores, con dos dominios ricos en Cys y una región linker desprovista de este aminoácido. Las estructuras primarias de las *Chlorophytas* contienen residuos de Cys a lo largo de toda la secuencia.

Actualmente estamos trabajando en la caracterización de dos MTs de la macroalga parda *Ectocarpus siliculosus* (EsilMT1 y EsilMT2). EsilMT1 tiene una estructura primaria similar a la de plantas superiores, mientras que EsilMT2 tiene una secuencia más corta, con un solo dominio rico en Cys. Los ensayos de complementación en levaduras deficientes en MTs mostraron que las dos MTs conferirían, en diversos grados, resistencia a la presencia de peróxido de hidrógeno, Zn, Cu y Cd. Cuando esas MTs se expresaron en *E. coli*, mejoraron el crecimiento en medios con alto contenido de Zn, Cu y Cd. La caracterización mediante ICP-AES y ESI-MS de las MTs sintetizadas en *E. coli* mostró que tienen afinidad para Cu y Cd, y que unen 4-6 metales divalentes y hasta 13 metales monovalentes.

Presentamos estas MTs de algas como herramientas prometedoras para la biorremediación de metales pesados teniendo como perspectivas expresarlas de forma heteróloga en la pared de algas de crecimiento rápido, inmovilizar esta biomasa en columnas, y realizar estudios de adsorción para la eliminación de iones metálicos de soluciones acuosas.

BV4. Aislamiento del promotor de un gen de Metalotioneína Tipo II de yerba mate y construcción de un vector para su uso en transformación

Álvarez, M.Y. (1); Espasandin, F.D. (1)*; Acevedo, R.M. (1); Ruiz, O.A. (2); Sansberro P.A. (1).

(1) Laboratorio de Biotecnología Aplicada y Genómica Funcional, IBONE (CONICET), Facultad de Ciencias Agrarias - UNNE, Corrientes, Argentina. (2) Unidad de Biotecnología 1, IIB-INTECh (CONICET), Chascomús, Argentina.

*fabidani1@gmail.com

La yerba mate (*Ilex paraguariensis*) es un cultivo económicamente importante en la región NE del país debido a que sus hojas y tallos jóvenes son empleados en la elaboración de infusiones. Las altas temperaturas y ausencias de lluvias en verano, vientos fuertes y baja humedad relativa producen deshidratación; cuya duración, afectará el contenido de agua disponible para el crecimiento, disminuyendo la producción.

Las plantas responden y se aclimatan a las condiciones de sequía mediante una variedad de mecanismos fisiológicos, que se relacionan a cambios en la expresión génica debido a la presencia de regiones promotoras inducibles por estrés. En este contexto, Metalotioneinas (MTs), proteínas que confieren tolerancia a estrés, aumentan su expresión en yerba mate en respuesta a sequía. Éstas tienden a unirse a metales pesados a la vez que participan en el mecanismo de defensa antioxidante capturando radicales libres.

Con los avances en la tecnología transgénica, es posible diseñar vectores y por ende, plantas que expresan transgenes bajo el control de un promotor inducible por estrés, potenciando su capacidad para soportar condiciones adversas. Por ello, se selecciona un promotor que solo promueva la transcripción del gen cuando verdaderamente ejerza un efecto protector sobre la planta. De lo contrario, un promotor constitutivo, genera la biosíntesis de abundantes proteínas recombinantes innecesarias, que puede representar un alto costo metabólico y disminuir la energía asignada a los rasgos de interés, como el rendimiento. En este contexto y con el objeto de realizar el análisis funcional de la región promotora del gen de MTs inducible por sequía se construyó un vector binario con el promotor

aislado de *I. paraguariensis* realizando su posterior inserción en plantas de *Lotus tenuis* utilizadas como modelo de estudio.

La metodología consistió en aislar el promotor del gen de la MTs de *I. paraguariensis*, seguidamente se insertó dicho promotor en el vector binario (plásmido pBi), seguido del gen reportero GUS, el cual al dirigir la expresión de la enzima β -glucuronidasa, permite determinar en qué órganos de la planta y en qué momento del estrés la región promotora activaría el gen GUS, en este caso. Seguidamente, el plásmido con las secuencias en estudio (pMTs::GUS), fue clonado en *E. coli* y luego el vector fue introducido en *A. tumefaciens*. Finalmente se procedió a la transformación genética de las plantas de *L. tenuis* mediante el método indirecto. Las técnicas de regeneración y transformación genética de *L. tenuis* se llevaron a cabo mediante técnicas de cultivo in vitro usando como agente selectivo el glufosinato de amonio. Como resultado del ensayo con 50 explantes iniciales se obtuvo un 80% de regeneración/selección, con 4 yemas/explante aproximadamente.

BV5. Una nueva estrategia para la recuperación *in situ* de antraquinonas en cultivos *in vitro* de raíces transformadas de *Rubia tinctorum* basada en el agregado de hexadecano y dodecano

Perassolo, M.; Rodriguez, J.; Cardillo, A.B.; Giulietti, A.M.; Rodríguez Talou, J.*
Cátedra de Biotecnología, Facultad de Farmacia y Bioquímica - Instituto
NANOBIOTEC (UBA-CONICET). Junín 956, 6º (1113). Buenos Aires, Argentina.
[*jrtalou@ffyb.uba.ar](mailto:jrtalou@ffyb.uba.ar)

Las antraquinonas (AQs) se utilizan son metabolitos secundarios presentes en especies de la familia Rubiaceae. Además de ser empleadas como colorantes, presentan numerosas actividades terapéuticas como: antitumorales, antivirales, tratamiento de cólicos renales, antimicrobianos, hipotensivos y anti-leucémicos. Para la obtención de metabolitos secundarios de interés terapéutico, las plantas enteras pueden ser utilizadas como fuente de estos compuestos, siendo una estrategia de bajo costo, ya que su escalado se efectúa a través de las técnicas agronómicas convencionales, pero con un impacto ecológico negativo ya que resulta en una explotación de la fuente natural y se afecta la biodiversidad. Una

alternativa a este sistema es la producción mediante cultivos *in vitro* vegetales, los cuales permiten la producción de biomoléculas de manera homogénea, bajo normas GMP y en condiciones optimizadas y controladas. En este trabajo se evaluó la producción de AQs en cultivo de raíces transformadas de *R. tinctorum* mediante la combinación de elicitación con metiljasmonato (MeJ) y la remoción *in situ* del producto (ISPR) con el agregado de una segunda fase orgánica al medio, hexadecano (HXD) y dodecano (DDC). Las raíces transformadas se cultivaron en el medio de cultivo Lloyd & Mc Cown's Woody Plant Medium (WPM). Se realizó un diseño factorial completo de 2²; MeJa: 0 y 100 µM, HXD y DDC: 0 y 10%.

El agregado de HXD estimuló la acumulación de AQs en el medio extracelular y mostró un efecto sinérgico con el MeJa. El DDC, por otra parte, si bien también demostró un efecto positivo en la acumulación extracelular de AQs también afectó el crecimiento de las raíces cuando se combinó con el agregado de MeJa. Los tratamientos individuales con HXD y DDC resultaron en una mayor liberación y acumulación de AQs en la fase orgánica comparados con el control y con respecto al tratamiento con MeJa, siendo 35 veces superior para el caso del DDC y 3 veces para el HXD.

En cuanto a la productividad de AQs los tratamientos con MeJa y MeJa/HXD mostraron los mejores resultados alcanzando niveles de AQs 1138 y 1742 µmol/l, respectivamente. El control y el tratamiento con MeJa/DDC, en cambio, resultaron en concentraciones de AQs de 571 µmol/l y 852 µmol/l respectivamente. Los tratamientos individuales con HXD y DDC fueron similares a los alcanzados en el por el cultivo control de 552 µmol/l y 582 µmol/l, respectivamente.

En conclusión, el agregado de HXD y DDC mostró ser una estrategia eficiente para la recuperación *in situ* del producto siendo el HXD el más eficiente, ya que el DDC mostró efectos negativos para el crecimiento y la producción cuando se combinó con la elicitación con MeJa.

BV6. Knock-out vía CRISPR/Cas9 del gen SPL13 en lechuga

Beracochea, V.C. (1)*; Bottero, A.E. (1,2); Stritzler, M. (1,2); Darqui, F.S. (1); Radonic, L.M. (1); López Bilbao, M. (1), Soto, G. (1,2).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular UEDD INTA-CONICET, Hurlingham, Argentina. (2) Instituto de Genética “Edwald Alfredo Favret” (IGEAF), INTA, Argentina. *beracochea.valeria@inta.gob.ar

La principal herramienta para la Edición Génica es, en la actualidad, el sistema CRISPR/Cas9 (del inglés, *Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, Crispr associated protein*) debido a su simplicidad de uso y su versatilidad. El objetivo de este trabajo fue estandarizar el knock-out de genes vía CRISPR/Cas9 en lechuga (*Lactuca sativa*), modificando el gen SPL13. Se ha reportado que la inhibición de la expresión del factor de transcripción SPL13 genera una fase vegetativa más larga, un aumento del área foliar y un retraso en la etapa de floración (Gao et al., 2017). Estas características son de gran interés para el cultivo de lechuga, la cual se cosecha en fase vegetativa y pierde valor comercial si avanza hacia su fase reproductiva.

En este trabajo se muestra, en primer lugar, la identificación del gen, el análisis filogenético de las proteínas LsSPL13 y el alineamiento de los integrantes del grupo ortólogo del gen LsSPL13. Asimismo, la construcción detallada de los vectores de edición génica para knockear el gen LsSPL13. Por último, los ensayos de transformación genética vía *Agrobacterium tumefaciens* de la var. Grand Rapids de lechuga, a partir de los cuales se obtuvieron 19 eventos independientes de transformación y los primeros análisis moleculares de estos eventos.

BV7. Edición de base del gen de la acetolactato sintasa de lechuga

Darqui, F. (1,2)*; Radonic, L. (1); Beracochea, V. (1); Hopp, E. (3,1); López Bilbao, M. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABiMo), Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Hurlingham, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. (3) Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular (FBMC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina. *darqui.flavia@inta.gob.ar

En distintas especies vegetales, mutaciones específicas en el gen de la acetolactato sintasa (ALS) conducen a sustituciones de aminoácidos que confieren resistencia a herbicidas. La sustitución espontánea de la prolina¹⁹⁷ (Pro197) por histidina en el gen ALS de *L. serriola* (lechuga salvaje) generó resistencia a herbicidas de sulfonilureas e imidazolinonas, característica que se pudo transferir por cruzamiento a la lechuga cultivada (*L. sativa*). Además, en lechugas salvajes resistentes a herbicidas, también se detectó la sustitución espontánea de Pro197 por treonina, serina o leucina.

Nuestro objetivo es, mediante la edición de base mediada por CRISPR/Cas, reemplazar la Pro197 (CCC) del gen ALS de *L. sativa* (*LsALS*) por serina (TCC/TCT) o leucina (CTC/CTT) y obtener líneas de lechuga resistentes a herbicidas. Esto nos permitirá optimizar la metodología de edición génica y la selección de eventos resistentes a herbicidas en nuestro laboratorio.

El presente trabajo describe el ensamblado del vector de edición, su *delivery* por transformación genética y la evaluación de plantas T0 y T1.

Se identificó la región blanco en el gen *LsALS* mediante amplificación por PCR y secuenciación, verificando la ausencia de variantes alélicas. Para el ensamblado del vector de edición, se utilizó el plásmido pXSE901BG (Addgene), se reemplazó el *cassette* de selección que otorga resistencia a glifosato/glufosinato de amonio por otro de resistencia a kanamicina, y se incorporó la secuencia gRNA-espaciadora dirigida a *LsALS*-Pro197. Se transformaron 132 cotiledones de lechuga (var. Grand Rapids) *vía* *Agrobacterium tumefaciens*, obteniéndose 8 eventos de transformación (eficiencia de transformación del 6 %). De cada callo resistente a kanamicina, se obtuvieron 1 a 3 plantas T0. Para confirmar la transformación estable se extrajo el ADN genómico de hojas de plantas adultas y se amplificaron por PCR dos fragmentos del T-DNA: uno incluyendo el gen *NPTII* y otro incluyendo el ARN guía (gRNA), siendo este último confirmado por secuenciación. Las plantas transgénicas se auto-polinizaron y produjeron semillas T1. Se confirmó la transgénesis en la progenie T1 mediante la evaluación del fenotipo de resistencia a kanamicina. Para la pre-selección de eventos de edición putativos, se ajustó un sistema de detección *in vitro*, germinando semillas T1 en medio de cultivo suplementado con el herbicida clorsulfurón. Una concentración de 50 mg/L de clorsulfurón inhibió el crecimiento de la raíz en plántulas control no transgénicas (NT), mientras que algunas plántulas T1 mostraron cierto grado de

tolerancia, compatible con una edición exitosa en el gen *LsALS*. Estas plantas fueron trasplantadas a maceta y se encuentran actualmente bajo análisis de caracterización molecular para la detección de cambios C por T en la región blanco.

BV8. Identificación en papas andinas de nuevas regiones genómicas relacionadas al endulzamiento inducido por frío

Sucar, S. (1)*; Castellote, M.A. (1); Carboni, M.F. (3); Massa, G.A. (1,2,3); Rey, M.F. (1,2); Divito, S.B. (1); Feingold, S.E. (1).

(1) Laboratorio de Agrobiotecnología, IPADS (INTA - CONICET), Balcarce, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Argentina. (3) CONICET, Argentina. *sucar.sofia@inta.gob.ar

El endulzamiento inducido por frío (CIS, por sus siglas en inglés) se produce como consecuencia del habitual almacenamiento a baja temperatura que sucede al recibir la papa de cosecha, con el objetivo de prevenir el brotado, reducir la pérdida de agua y la transmisión de enfermedades. Esta práctica que contribuye a mantener la calidad, constituye a la vez el principal problema de la industria procesadora, ya que induce la acumulación de azúcares reductores (AR).

El CIS ha sido correlacionado con el incremento de la actividad de las invertasas y de las enzimas que degradan almidón. Es de interés identificar nuevos genes involucrados en este proceso dado que los AR impactan negativamente en la calidad de las chips de papa, provocando la acumulación de compuestos tóxicos, como la acrilamida y otorgando un sabor amargo y un color oscuro a las papas procesadas. Se sabe además, que el color de chips de papa está correlacionado con el contenido de AR.

Una estrategia interesante es la obtención de variedades que contengan baja concentración de AR que produzcan chips de colores aceptables para la industria. Las papas andinas del noroeste argentino, *S. tuberosum* grupo Andigena han sido descritas como las más diversas entre las especies de papa cultivada y constituyen, por tanto, un buen punto de partida para la búsqueda de genotipos que reúnan las características anteriormente mencionadas.

En el presente estudio se realizó un mapeo asociativo en un panel de 111 genotipos de papa andina y 3 variedades comerciales (*S. tuberosum* grupo *Tuberosum*), durante tres ensayos consecutivos en la EEA Abrapampa – INTA-Jujuy, zona con las condiciones climáticas óptimas para el desarrollo de las papas nativas. Evaluamos el fenotipo del color de chips utilizando una carta de colores con nueve puntos: desde amarillo muy claro (9) a marrón muy oscuro (1), desarrollada por el Instituto de Almacenamiento y Procesamiento de Productos Agrícolas de Wageningen, Holanda. Para determinar qué regiones del genoma de la papa participan en este fenómeno, se llevó a cabo un mapeo asociativo por modelo lineal mixto utilizando 5035 marcadores DArTseq altamente reproducibles. Los resultados para cada año fueron comparados y así pudimos identificar regiones genómicas en los cromosomas I, II, IV, V, VII y XI que se asocian al color de chips luego del almacenamiento a 4 °C en todos los años ($p < 0,05$).

A modo ilustrativo, efectuamos una correlación entre el color de chip y el contenido de AR para uno de los ensayos, luego del almacenamiento en frío. Se obtuvo una correlación negativa ($p < 0,0001$) y un coeficiente de correlación de -0,6116 el cual estuvo en concordancia con lo reportado en la literatura (0,47-0,92).

Estos resultados avanza sobre la identificación de regiones genómicas de interés, potenciales candidatas para la obtención de papas resistentes a CIS.

BV9. Transformación genética de papa cultivar Spunta para aumento de la tolerancia a estrés hídrico

Decima Oneto, C. (1,2)*#; D'Íppólito, S. (3,4)#; Massa, G.A. (1,2,4); Norero, N.S. (1); Rey, F. (1,2,3); Feingold, S. (1); Guevara, G. (3,4).

(1) Laboratorio de Agrobiotecnología, IPADS Conicet, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Agrarias, UNMDP, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones Biológicas, UNMDP, Argentina. (4) CONICET, Argentina. #Ambos autores contribuyeron en igual proporción. *decimaoneto.cecilia@inta.gob.ar

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo con aproximadamente 385 millones de toneladas. La limitación más frecuente para la producción de papa se asocia con deficiencias hídricas. En este contexto, el mejoramiento genético del cultivo puede conducir a

una mejora en la tolerancia de las plantas a este tipo de estrés. Previamente demostramos que en *Arabidopsis thaliana* (At) la sobreexpresión estable de una aspartil proteasa (AP) típica (AtAPA1) produjo un aumento de la tolerancia frente al estrés hídrico. El objetivo del presente proyecto fue obtener plantas de papa transgénicas que sobreexpresen una AP homóloga a APA1 (denominada StAP3), las cuales podrían presentar un comportamiento similar. Para ello, se transformaron, vía *Agrobacterium tumefaciens*, explantes foliares de papa cv. Spunta. Se obtuvieron 5 eventos, los cuales fueron analizados mediante qPCR para determinar los niveles de expresión de StAP3. Se seleccionaron 3 eventos (A, B y C), los cuales presentaron una sobreexpresión relativa alta (B; 10.21), media (C; 1.91) y baja (A; 0.79) de StAP3 comparando con controles no transformados (WT) (gen de referencia: Factor de Elongación de papa). Estos niveles de expresión fueron validados mediante Western Blot con anticuerpos específicos. Se realizó un ensayo *in vitro* de estrés osmótico utilizando medio MS conteniendo sorbitol 40 g/L y se realizaron mediciones moleculares y morfológicas a lo largo de un mes. Los eventos transgénicos presentaron mejor desempeño frente al estrés comparando con las plantas WT. Se encontraron diferencias significativas entre el control WT y los eventos transgénicos ($P < 0.0001$; $\alpha = 0.05$) en los parámetros morfológicos tales como contenido de agua, crecimiento, peso fresco, peso seco y contenido de clorofila. Con el objetivo de conocer los mecanismos moleculares implicados en la mayor tolerancia observada, se realizaron ensayos de qPCR para genes asociados a diferentes vías de señalización. Los resultados indicaron que las plantas transgénicas de los 3 eventos, bajo condiciones de estrés, presentaron mayores niveles de expresión del gen P5SC en comparación con el WT bajo la misma condición. El gen P5SC está implicado en la síntesis del osmolito prolina que, en condiciones de estrés osmótico, aumenta evitando la pérdida de agua de las plantas. Por otro lado, no se observaron diferencias en la expresión de genes que codifican para enzimas involucradas en la removilización de lípidos.

Actualmente estamos analizando la implicancia de otras vías relacionadas con el metabolismo hormonal relacionado con la respuesta de las plantas al estrés hídrico/osmótico como, por ejemplo, la señalización mediada por ABA.

Estos resultados deberán validarse en un ensayo de estrés hídrico en invernáculo para caracterizar los eventos transgénicos con respecto a la tolerancia al déficit hídrico y al uso eficiente del agua.

BV10. Caracterización del proceso de senescencia foliar en girasol a partir de la toma de imágenes a campo

Bengoa Luoni, S.A. (1,2)*; Montenegro, S.A. (1); Mendez, L. (3); Izquierdo, N.G. (2,4); Fernández, P. (1,2).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-Castelar, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. (3) FCA UMDP Unidad Integrada EEA, INTA-Balcarce, Argentina. (4) Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, FCA-UNMDP, Balcarce, Argentina. *bengoa.sofia@inta.gob.ar

La senescencia foliar es un mecanismo complejo controlado por múltiples variables genéticas y ambientales que condicionan el rendimiento de los cultivos. La senescencia es el último estadio del desarrollo, que se caracteriza por una declinación de la actividad fotosintética, una activa degeneración de las estructuras celulares, el reciclado de nutrientes, y en última instancia, la muerte celular. El proceso de senescencia en girasol tiene un importante impacto económico que interviene en la brecha existente entre el rendimiento potencial y el rendimiento real observado, en todas las regiones productoras. De esta manera, la senescencia foliar se vuelve un carácter fenotípico de interés para el cultivo de girasol ya que puede ser utilizado tanto para estimar el rendimiento potencial, además de como parámetro visual de la sanidad del cultivo en curso con un enfoque de agricultura de precisión.

Si bien las herramientas de biología molecular disponibles para el mejoramiento genético y el análisis de procesos complejos como la senescencia foliar han avanzado notablemente en los últimos años llegando a caracterizar cientos de marcadores moleculares en un corto tiempo, el fenotipado de las plantas aún es manual y laborioso. La senescencia foliar se estima manualmente recorriendo el campo y contando el número de hojas senescentes de cada planta a diferentes periodos de tiempo para evaluar la curva de senescencia del cultivo y finalmente

asociarla al rendimiento. Sin embargo, el número de hojas senescentes se calcula a partir del análisis visual de cada hoja, determinando que una hoja senescente tiene un 50% o más de clorosis. Este análisis manual es laborioso y subjetivo, por lo que deben realizarse nuevas metodologías que aumenten la capacidad y disminuyan el tiempo requerido.

En este trabajo nosotros realizamos la curva del porcentaje clorosis observado en la hoja 10 de plantas de girasol cultivadas a campo a lo largo de la campaña 20-21 en dos líneas de girasol contrastantes para el fenotipo de senescencia. El análisis se llevó a cabo manualmente y de manera automática a partir de imágenes tomadas a campo desde teléfonos celulares. Se compararon diferentes parámetros de efectividad de las mediciones, como el tiempo requerido y la exactitud de la medición tomando como valor estándar mediciones realizadas manualmente. Aunque el tiempo requerido para la automatización del proceso fue más largo que para las mediciones manuales, el tiempo final del análisis fue ampliamente mejorado. Por otro lado, la exactitud de la medición (tomada como el módulo del error determinado, $|Edet|$) mostró tener valores muy exactos para la determinación de hojas totalmente senescentes ($100\% \pm 1,42$) o totalmente verdes ($0\% \pm 0,78$). Sin embargo, cuando se evaluaron hojas parcialmente senescentes con un promedio de senescencia del 25% se obtuvo un $\langle |Edet| \rangle = 6,0$. Esta disminución en la exactitud de la medición refleja la subjetividad de las mediciones cuando se realizan manualmente. Este análisis es un primer paso hacia la automatización en el análisis de imágenes provenientes del campo, el cual podría utilizarse en tiempo real.

BV11. Optimización de un diseño experimental para el estudio de la interacción *Citrus* - *Candidatus Liberibacter* spp., causante de la enfermedad *HuangLongBing* mediante análisis de RNA-seq

Machado, R. (1)*; Moschen, S.N. (2); Conti, G. (3); González, S.A. (3); Burdyn, L. (1); Hopp, H.E (3); Di Rienzo, J. A. (4); Fernández, P. (3).

(1) EEA INTA Concordia, Argentina (2) EEA INTA Famallá, Argentina. (3) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA CONICET. (4)

Facultad de Ciencias Agropecuarias, UNC, Argentina.

*machado.rodrico@inta.gob.ar

HuangLongBing (HLB) es la enfermedad más letal de los cítricos y puede ser causada por tres especies de bacterias “*Candidatus Liberibacter asiaticus*” (CLas), “*Candidatus Liberibacter americanus*” (CLam), y “*Candidatus Liberibacter africanus*” (CLaf), siendo CLas la única registrada en Argentina. Es preciso señalar que la bacteria circula por el floema y al tapar los vasos floemáticos impide la circulación de los nutrientes.

Existen dos vías de transmisión de las bacterias, a través de los insectos transmisores *Diaphorina citri* (psílido asiático), presente en el territorio nacional, y *Trioza erytreae* (psílido africano); o partir de injertos de plantas cítricas enfermas, aunque esto suele ser poco frecuente. Actualmente, el HLB no tiene tratamiento y afecta a todos los cítricos.

Los síntomas en plantas jóvenes aparecen en hojas alrededor de los 6 a 12 meses posteriores a la infección. En árboles mayores a 10 años, la aparición de síntomas puede ser más tardía. Asimismo, algunos sectores de la planta, manifiestan los síntomas y otros permanecen asintomáticos

El método por excelencia actualmente utilizado para la detección de HLB es la PCR en tiempo real basado en la secuencia 16S rDNA. Sin embargo, la distribución irregular de las bacterias en las plantas, genera dificultades en el proceso de muestreo y posterior análisis. Además, excepto que se tomen muestras de raíz, la detección recién se puede realizar en estadíos avanzados de la enfermedad.

Los análisis transcriptómicos permiten la identificación de un gran número de genes que la planta expresa en respuesta a la infección. Los datos generados mediante la implementación de esta estrategia permiten identificar patrones de expresión diferencial génica en plantas cítricas en respuesta a la infección con CLas, durante etapas tempranas de la enfermedad. De este modo, los genes seleccionados pueden ser utilizados como biomarcadores de la enfermedad, aún cuando los síntomas no son detectados visualmente y la bacteria no ha migrado a la copa del árbol.

Por lo que el diseño experimental adecuado es clave para este tipo de estudio de expresión génica.

El objetivo de este trabajo fue establecer, basándose en colecciones públicas de transcriptomas *CLas-Citrus spp.*, un protocolo *in-silico* óptimo para el diseño experimental de un RNA-seq con suficientes réplicas, realizados en una serie temporal determinada y acompañada de una secuenciación con profundidad que responda a nuestro modelo de interacción *CLas-Citrus spp.*

Estos análisis permitieron optimizar los tiempos de muestreo a 12, 16, 20 y 24 semanas a fin de poder detectar los cambios transcriptómicos en etapas tempranas. Además, el análisis exhaustivo de datos nos permitió elegir a mandarina y a naranja como las especies candidatas a ser estudiadas, puesto que, a diferencia de otros cítricos, sus genomas y transcriptomas están secuenciados y anotados, son especies altamente susceptibles a CLas y resultan de gran importancia para la región mesopotámica.

BV12. Caracterización molecular de cultivares de pecán, *Carya illinoensis*, para su identificación y análisis de diversidad genética

Rivas, J.G. (1); García, M. (1); Martínez, M.C. (1)*; Acuña, C.V. (1); Aguirre, N.C. (1); Villalba, P.V. (1); Frusso, E.A. (3); Grassi, A.L. (2); Ceballos, D. (2); Marcucci Poltri, S.N.(1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina. (2) Estación Experimental Agropecuaria Delta del Paraná, INTA, Argentina. (3) Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA, Argentina.

*martinez.mc@inta.gob.ar

El árbol del pecán [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] llegó a Argentina desde EE.UU. en el siglo XIX con fines ornamentales. Desde el año 1969 el INTA comenzó a trabajar en este cultivo, entendiendo que era una alternativa productiva con grandes perspectivas de desarrollo. En el año 2003 introdujo y hoy conserva 27 cultivares provenientes del Pecan Breeding Program, perteneciente al National Clonal Germplasm Repository del USDA (EE.UU.) los que fueron multiplicados y evaluados. Posteriormente se inscribieron 18 cultivares en el Registro Nacional de Cultivares y 2 en el Registro Nacional de la Propiedad de los Cultivares del INASE (Instituto Nacional de Semillas). Estos cultivares se fueron difundiendo en distintas

regiones del país, dado que hay algunos adaptados a diferentes climas (templado-húmedo, frío o árido).

Los cultivares difieren en sus características, incluyendo la arquitectura del árbol, resistencia a enfermedades, tipo de floración y forma y tamaño del pecán, que se utilizan también para su diferenciación. Estos caracteres pueden ser influidos por condiciones ambientales o evidenciarse recién en la etapa reproductiva (los pecanes florecen recién a partir del quinto año de ser plantados). Por esta razón, el productor maneja la plantación durante varios años sin tener certeza del cultivar específico adquirido en el vivero. Más aún, la capacidad de identificar un cultivar de pecán y de seleccionar los cultivares más apropiados para diferentes condiciones ambientales son componentes clave para el éxito de este cultivo en expansión. Así, la identificación temprana es necesaria para garantizar la trazabilidad en todo el proceso de generación y multiplicación del material selecto, indispensable para lograr plantaciones con los cultivares apropiados. Existe demanda actual por parte de viveros, multiplicadores y productores para la identificación temprana e inequívoca de los materiales que están actualmente en el mercado y en plantaciones jóvenes, dado que se ha reportado variabilidad no prevista en los mismos.

En 2018 se tomaron muestras de hojas de plantas (procedimiento fiscalizado por personal del INASE) del predio de la EEA Delta del Paraná del INTA. A partir de ese material se extrajo ADN para ser evaluado empleando un sistema de marcadores microsatélites (PecanBiocoding, FVT-176-2018). Se analizaron 126 plantas del predio, generando perfiles genéticos útiles para su identificación y trazabilidad, estimación de su diversidad y relaciones genéticas. Al comparar los materiales ingresados desde EE.UU., con perfiles moleculares testigos provistos por el USDA, se pudo garantizar la trazabilidad del 77% de los mismos. La identificación molecular de los cultivares realizada complementa los estudios de fenología y de fenotipo característicos de cada cultivar, requisitos necesarios para un ordenamiento de los materiales disponibles.

BV13. Efecto de bacterias rizosféricas nativas en el enraizamiento *in vitro* de *Handroanthus impetiginosus*

Yarte, M.E. (1,2)*; Santos, M.P. (1,2); Llorente, B.E. (1); Larraburu, E.E. (1,2).

1) Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. * mauro_yarte@yahoo.com.ar

Handroanthus impetiginosus "lapacho rosado" (*Bignoniaceae*) es una especie distribuida en zonas tropicales y subtropicales del continente americano, incluido el noroeste argentino. Se utiliza como especie ornamental, forestal y medicinal. Además, posee potencial para la fitorremediación de áreas afectadas por la contaminación con metales. Las poblaciones naturales han sido sometidas a la tala indiscriminada y presenta inconvenientes en su propagación. Diversas bacterias rizosféricas promueven el crecimiento vegetal mejorando la disponibilidad y absorción de nutrientes, regulando los niveles de fitohormonas y desencadenando mecanismos de tolerancia al estrés biótico o abiótico. En base a lo descrito, resulta de gran importancia su conservación mediante herramientas biotecnológicas como el cultivo *in vitro* y la biofertilización. El objetivo de nuestro trabajo fue evaluar el efecto de cepas aisladas de la rizósfera de plantas adultas de lapacho rosado sobre el enraizamiento *in vitro* de esta especie.

Las cepas empleadas fueron L20 (*Stenotrophomonas* sp.), L21 (*Advenella* sp.), L22 (*Sphingobacterium* sp.), L23 (*Brevundimonas* sp.), L24 (*Bacillus* sp.) y L25 (*Bacillus* sp.). Se utilizaron brotes sin inducción e inducidos 3 días con 30 μ M de ácido indol-butírico, transferidos a medio sin hormonas e inoculados con 107-109 ufc por cepa. Brotes sin inocular fueron los controles. Se evaluaron: porcentaje de enraizamiento, parámetros biométricos, contenido de clorofila, de lignina y de proteínas totales solubles. Los resultados fueron analizados estadísticamente con IBM SPSS v. 21 y comparación de proporciones. Se calculó además un índice de parámetros biométricos (IPB) para evaluar el efecto global de los tratamientos.

La inoculación con las cepas L21 y L22 mejoró significativamente ($p < 0,05$) los porcentajes de enraizamiento independientemente de la inducción hormonal. Además, L21 y L25 ocasionaron incrementos significativos en los pesos fresco y seco de raíces ($p < 0,05$) respecto de los controles y mayor IPB. La inoculación con L25 aumentó la concentración de clorofila entre las plantas no inducidas, mientras que L23 generó una respuesta análoga en brotes inducidos. L25 también incrementó significativamente más del 190% el contenido proteico. L20, L24 y L25

aumentaron el contenido de lignina, aunque las diferencias no fueron significativas. En conclusión, el uso de cepas bacterianas rizosféricas nativas estimuló la rizogénesis *in vitro* y produjo mayor desarrollo.

BV14. Cultivos Bt: estrategias para retrasar el desarrollo de resistencia en poblaciones de insectos blanco

Malacarne, M.F. (1)*; Zapiola, M.L. (2).

(1) Asociación Semilleros Argentinos, Argentina; (2) ArgenBio, Argentina.

*fabiana.malacarne@asa.org.ar

Los cultivos Bt son plantas genéticamente modificadas para brindar protección frente a ciertas plagas de insectos lepidópteros, a través de la expresión de proteínas insecticidas provenientes de *Bacillus thuringiensis*. Cuando los insectos ingieren tejido de plantas con proteínas Bt, la toxina es activada, se une a receptores específicos de las células intestinales y forma poros que interrumpen el proceso digestivo, ocasionando la muerte de la larva. La principal amenaza a los cultivos Bt es el potencial, de las plagas blanco, de seleccionar resistencia a dichas proteínas, con la consecuente pérdida de eficacia en el control. La resistencia de insectos es el resultado de la selección de individuos que presentan alguna diferencia natural que les permite sobrevivir frente a una determinada estrategia de control (insecticidas químicos, proteínas Bt, etc.). El uso ininterrumpido de proteínas Bt ejerce una alta presión de selección sobre las plagas blanco y selecciona individuos resistentes en las poblaciones que se quieren controlar. Al sobrevivir y reproducirse, estos individuos transmiten la resistencia a su descendencia, aumentando la proporción de individuos resistentes en la población. Cuanto mayor sea la presión de selección por uso exclusivo y repetido de una misma práctica de control, más posibilidades habrá de desarrollo de resistencia en una población. La resistencia es un fenómeno natural que no puede evitarse, pero puede retrasarse con prácticas de manejo. Con el objetivo de retrasar el desarrollo de resistencia, las empresas desarrolladoras y licenciatarias de las tecnologías Bt crearon el Programa Manejo de Resistencia de Insectos (Programa MRI: www.programamri.com.ar), al que se han sumado también asociaciones de productores y de monitores de plagas. Dentro de las estrategias recomendadas, la siembra de refugio es la herramienta base para

retrasar la selección de resistencia. El refugio es una porción del lote sembrada con un cultivo no Bt de similar ciclo de madurez que la del cultivo Bt. Esta área está destinada a favorecer la producción de insectos susceptibles que se aparearán con los resistentes, que pudieran seleccionarse en la porción Bt del lote, y producirán descendencia susceptible, manteniendo baja la frecuencia de alelos resistentes en la población. La siembra y el correcto manejo del refugio debe ir acompañada de otras buenas prácticas como: rotación de cultivos, correcta elección de la tecnología de acuerdo a fecha de siembra y plaga principal, buen control de malezas y tratamiento del rastrojo (para evitar una población inicial de insectos elevada), buena implantación del cultivo, monitoreo periódico de plagas (tanto en la porción Bt del lote como en el refugio) y control de la plaga cuando se alcancen los umbrales de daño recomendados.

BV15. Efecto de LEC2 sobre la expresión de proteínas heterólogas en hojas de *Nicotiana benthamiana*

Ocampo, C.G.*; Petruccelli, S.

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) - Departamento de Ciencias Biológicas - Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. *carolina.g.ocampo@gmail.com

Las plantas son el sistema más económico y seguro para la producción de proteínas farmacéuticas e industriales. Muchas de estas proteínas requieren de un procesamiento típico de la vía secretoria para alcanzar una conformación activa y soluble. En sistemas como células de mamíferos y levaduras, la síntesis de proteínas foráneas en esta vía se encuentra limitada por la capacidad de plegamiento y transporte, utilizándose estrategias de ingeniería celular para superar estas limitaciones e incrementar los rendimientos. En células vegetales este tipo de estrategias no se han explorado. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto del factor de transcripción LEC2, vinculado a la síntesis de reservas en semillas, en la producción de proteínas foráneas en hojas. La hipótesis planteada es que la expresión ectópica de LEC2 produciría cambios en el desarrollo de la vía secretoria conduciendo a mayores niveles de acumulación. Con este fin se utilizaron diferentes genes reporteros dirigidos por el promotor CaMV35S y el

factor de transcripción LEC2 como efector que fueron introducidos en hojas de *Nicotiana benthamiana* utilizando agrobacterias, comparándose los resultados obtenidos con y sin efector. LEC2 no se une al promotor CaMV35S y los efectos observados serían indirectos. Primero se estudió el impacto de LEC2 en la localización de marcadores fluorescentes de la vía secretoria mediante microscopía confocal de barrido láser (CLSM). GFP-HDEL (marcador del Retículo Endoplásmico, ER) y ST-GFP (marcador del Golgi) presentaron la misma localización en ambos casos, mientras que los marcadores de compartimientos prevacuolares (PVC), GFP-BP80, y vacuola, RFP-AFVY, son secretados en presencia de LEC2, indicando una alteración post-Golgi del funcionamiento de la vía. Los análisis realizados por inmunoblot, mostraron que LEC2 produce aumentos de 2,5-3,5 veces en la acumulación de proteínas retenidas en el ER y de 3-6 veces para proteínas vacuolares. La presencia fluorescencia de GFP-BP80 en el apoplasto llamó la atención ya que GFP suele ser inestable a pH ácido, por ello se estudió el pH del apoplasto in vivo mediante CLSM en plantas de *Arabidopsis thaliana* Apo-pHusion que expresan de forma estable el sensor de pH mRFP1–EGFP direccionado a apoplasto, observándose un aumento del pH en hojas infiltradas con LEC2 respecto a controles sin infiltrar o infiltrados con un vector vacío. Teniendo en cuenta que se ha informado que el apoplasto es un compartimiento proteolítico se decidió evaluar la actividad proteolítica. Usando azocaseína se evaluó la actividad de extractos de hojas de *N. benthamiana* infiltradas con un vector vacío o LEC2, obteniéndose valores de actividad del 50% y 25%, respectivamente, respecto a hojas sin infiltrar. En conclusión, demostramos que la expresión de LEC2 los niveles de acumulación de reporteros en la vía secretoria siendo una estrategia novedosa potencialmente aplicable tanto para plataformas de producción transitorias como estable.

BV16. Selección de individuos de algodón mutagenizados en generación M4, en respuesta a estrés hídrico y salino

Cereijo, A.E. (1)*; Winkler, H.M. (1); Dileo, P.N. (1); Muchut, R.J. (1); Scarpin, G.J. (1); Roeschlin, R.A. (1); Lorenzini, F. (1); Paytas, M.J. (1); Landau, A.M. (2).
(1) Equipo de Investigación en Algodón – Estación Experimental Agropecuaria - INTA Reconquista, Santa Fe, Argentina. (2) Instituto de Genética “Ewald A.

Favret" (IGEAF) CNIA-INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.
[*cereiyo.antonela@inta.gob.ar](mailto:cereiyo.antonela@inta.gob.ar)

Actualmente, en Argentina, existen escasos genotipos de algodón (*Gossypium hirsutum* L.) adaptados a las diversas condiciones agroecológicas, siendo necesario avanzar en investigaciones locales que involucren nuevos materiales genéticos en respuesta al ambiente, sus limitantes de crecimiento y desarrollo, y prácticas de manejo agronómico ajustadas. Las mutaciones son el origen primario de la variabilidad genética y, por tanto, cierto control sobre su frecuencia y/o espectro puede considerarse una herramienta de gran valor para el mejoramiento de las plantas cultivadas. Las técnicas de mutaciones inducidas son de gran utilidad para los procesos de mejoramiento vegetal, ya que permiten la generación de nuevos alelos que contribuyan al avance de los conocimientos sobre el control genético de caracteres de interés, para luego ser utilizados directamente, o por cruzamiento, en el proceso de mejoramiento genético.

Con el objetivo de seleccionar materiales mutagenizados con una respuesta diferencial frente a estrés hídrico y salino, se sembraron semillas de algodón M4 (cuarta generación post tratamiento) provenientes de tratamientos mutagénicos físicos (rayos γ) y químicos (EMS y azida sódica), en macetas en invernadero. Sobre un total de 27 individuos M4, y utilizando la variedad de origen sin mutagenizar (Guazuncho 3 INTA) como control, se aplicó estrés hídrico y salino en estadio vegetativo (cuarta hoja expandida). Posterior al estrés, se determinaron tanto características morfo-fisiológicas y bioquímicas (biomasa, contenido relativo de agua, potencial hídrico, temperatura foliar, contenido de prolina, iones Na^+ y K^+), como agronómicas (rendimiento bruto, porcentaje de desmote, rendimiento de fibra).

Los resultados indicaron un comportamiento diferencial entre los individuos evaluados frente a los estreses abióticos aplicados. En cuanto a las variables fisiológicas y bioquímicas, se obtuvieron diferencias entre los materiales en los contenidos relativos de agua y relación K^+/Na^+ , en ambos estreses; mientras que los niveles de prolina en hoja solo presentaron diferencias entre individuos ante estrés hídrico, con valores que oscilaron entre 2 y 10,5 nmol/mg tejido seco. En el caso de los análisis agronómicos, se encontraron diferencias significativas entre los individuos para el rendimiento bruto (fibra + semilla), exhibiendo valores entre

1,50 a 18,50 g/UE y 10,50 a 22,50 g/UE, para estrés salino e hídrico, respectivamente. Al mismo tiempo, un comportamiento similar se halló para el porcentaje de desmote, parámetro que mostró diferencias entre las plantas analizadas en ambos tipos de estrés ensayados. En conjunto, los resultados obtenidos indicaron que existen diferencias entre los individuos M4 mutagenizados, lo cual permite, basados en las variables determinadas, realizar una selección de materiales con un comportamiento diferencial frente a estrés hídrico y salino, los cuales puedan ser posteriormente incorporados en un programa de mejoramiento.

BV17. Estudio del efecto de diferentes dosis de mutágenos físicos y químicos sobre plantas de algodón

Winkler, H.M. (1)*; Cereijo, A.E. (1); Dileo, P.N. (1); Muchut, R.J. (1); Scarpin, G.J. (1); Roeschlin, R.A. (1); Lorenzini, F. (1); Paytas, M.J. (1); Landau, A.M. (2).

(1) Equipo de Investigación en Algodón – Estación Experimental Agropecuaria - INTA Reconquista, Santa Fe, Argentina. (2) Instituto de Genética “Ewald A. Favret” (IGEAF) CNIA-INTA Castelar, Buenos Aires, Argentina.

*winkler.horacio@inta.gob.ar

La técnica de mutagénesis ha sido usada con éxito en innumerables ocasiones para obtener nueva variabilidad en plantas de cultivo. Las mutaciones son el origen primario de la variabilidad genética y, por lo tanto, cierto control sobre su frecuencia puede considerarse una herramienta de gran valor para el mejoramiento de las plantas. Los mutágenos se pueden agrupar en dos grandes categorías según su naturaleza: físicos y químicos, y sus dosis deben ser optimizadas para aumentar las posibilidades de producir mutantes de interés y lograr una población de plantas mutagenizadas que permita realizar el proceso de selección con éxito.

Con el objetivo de determinar las dosis adecuadas de diferentes agentes mutagénicos y optimizar la técnica, se realizó una evaluación de los efectos de mutágenos físicos y químicos en una variedad elite de algodón Guazuncho 3. Para ello se realizaron tratamientos en semillas de algodón con cuatro dosis de rayos

X (RX; 200, 300, 400, 500 Gy), etil metano sulfonato (EMS; 0.1, 0.2, 0.3, 0.4%), azida de sodio (AS; 2, 4, 8, 16 mM) y una combinación de AS y RX (2, 4, 8, 16 mM+100 Gy), utilizando como control semillas sin ningún tratamiento. Se evaluaron diferentes variables como el porcentaje de germinación (PG), supervivencia de plantas (Sv), índice de velocidad de germinación (GVI), tasa de crecimiento (Tc), número de plantas fuera de tipo (FT), presencia de quimeras (Q) y el número total de semillas producidas por planta (nS).

El mayor efecto sobre el PG se observó en el tratamiento químico con EMS, produciéndose una reducción de plántulas germinadas a medida que la dosis fue en aumento. El EMS también fue el agente que mayor efecto tuvo sobre la Sv a medida que aumentó la dosis. Los GVI mostraron una diferencia significativa principalmente en el tratamiento con EMS, con una clara tendencia a disminuir a medida que se incrementó la dosis, lo que estaría influenciado principalmente por el número de plantas germinadas. En los tratamientos de AS también se observó como el GVI descendió al aumentar la dosis, comprobando que este mutágeno retrasa la germinación. En tratamiento combinado AS+RX se apreció un comportamiento similar a AS, pero con menor efecto, concluyendo que la AS sería el principal agente que está actuando sobre GVI. El efecto del daño sobre las Tc fue significativo en los tratamientos químicos con un $R^2=0.84$ para AS y $R^2=0.97$ para EMS. Además, se observó que los tratamientos con EMS y RX originaron mayor número FT y Q. Con respecto al nS no se observaron diferencias significativas entre tratamientos ni dosis ensayados.

La elección de una dosis media sería lo más indicado, ya que, si es muy alta, la tasa de mutaciones es mayor pero la supervivencia es baja y no se obtendría un número de individuos en la población suficiente para llevar a cabo una selección eficiente. Por el contrario, una disminución considerable de la dosis produciría un mayor número de individuos en la población, pero una menor tasa de mutaciones.

BV18. Cultivo de callos y desarrollo de un protocolo de micropropagación de *Stevia maimarensis*

Elso, O.G. (1,2)*; Sülsen, V.P. (1,2); Rodríguez Talou, J. (3,4); Perassolo, M. (3,4).
(1) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Farmacología, Cátedra de Farmacognosia, Buenos Aires,

Argentina. (2) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA), Buenos Aires, Argentina. (3) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Microbiología, Inmunología, Biotecnología y Genética, Cátedra de Biotecnología, Buenos Aires, Argentina. (4) CONICET-Universidad de Buenos Aires, Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Buenos Aires, Argentina.
[*orlandoelso@hotmail.com](mailto:orlandoelso@hotmail.com)

Stevia maimarensis (Hieron.) Cabrera (Asteraceae) es una especie endémica de Argentina, presente en las provincias fitogeográficas Prepuneña y Chaqueña. A partir de esta especie se ha aislado la lactona sesquiterpénica eupatoriopirina, activa en ensayos *in vitro* e *in vivo* contra *Trypanosoma cruzi*, agente causal de la enfermedad de Chagas. Dada la baja abundancia y localización restringida de *S. maimarensis* y el potencial farmacológico de eupatoriopirina, se decidió desarrollar un protocolo de micropropagación para esta especie y buscar un medio de cultivo para el desarrollo de callos.

Se establecieron cultivos *in vitro* iniciales a partir de aquenios desinfectados de *S. maimarensis* en medio Murashige-Skoog (MS), que se utilizaron para los ensayos posteriores. Para inducir el crecimiento de tallos adventicios, se cultivaron segmentos nodales en medio MS con diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP) (0.5-1.5 ppm). Luego de 45 días, se cuantificaron el número de tallos y de segmentos nodales desarrollados por explanto. Por otro lado, para inducir el crecimiento de raíces adventicias, se cultivaron los segmentos nodales en medio MS con diferentes concentraciones de ácido naftalenacético (NAA), ácido indolacético (IAA) y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). Para el desarrollo de callos, se cultivaron segmentos nodales en medio MS con diferentes combinaciones de auxinas y citoquininas. Luego de 45 días, se evaluó visualmente el crecimiento y la friabilidad de los callos obtenidos. La detección de eupatoriopirina en extractos diclorometánicos del material vegetal se realizó mediante cromatografía en capa delgada (TLC) contra un estándar del compuesto de interés.

A partir del cultivo *in vitro* de aquenios de *S. maimarensis* se desarrollaron plántulas con un solo tallo y sin desarrollo espontáneo de raíces. El medio MS adicionado con 1.0 ppm de BAP indujo el desarrollo de un mayor número de tallos

(4.8) y segmentos nodales por explanto (20.8) comparado con el control (1.6 y 11.1, respectivamente). Por otra parte, no se evidenció el desarrollo de raíces adventicias en ninguna de las condiciones ensayadas. Se detectó eupatoriopirina en los extractos de tallos adventicios de *S. maimarensis* luego del tratamiento de los segmentos nodales con BAP. Con respecto a los cultivos de callos, los medios de cultivo con NAA 1 ppm (solo o en combinación con 0.2 ppm de kinetina o BAP) dieron origen a callos friables que crecieron abundantemente. En los extractos de estos callos no se detectó la presencia de eupatoriopirina.

Se lograron establecer cultivos *in vitro* de *Stevia maimarensis* a partir de aquenios de esta especie. Si bien se encontraron condiciones de cultivo para el desarrollo de callos friables, no se detectó la presencia de eupatoriopirina en los mismos. Finalmente, se cumplieron con éxito las primeras etapas de un protocolo de micropropagación de *S. maimarensis*, al encontrarse un medio de cultivo para el desarrollo de tallos adventicios.

BV19. Inmovilización de la enzima de hiosciamina 6 β -hidroxilasa a hidrogeles de quitina para su reutilización en la producción de anisodamina y escopolamina

Minoia, J.M. (1)*; Villanueva, M.E. (2); Copello, G.F. (2); Rodríguez Talou, J. (1); Cardillo, A.B. (1).

(1) Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC), Universidad de Buenos Aires-CONICET, Argentina (2) Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA), Universidad de Buenos Aires-CONICET, Argentina.

*jminoia@docente.ffyb.uba.ar

La enzima hiosciamina 6 β -hidroxilasa (H6H) es el catalizador final de la ruta biosintética de escopolamina y se encuentra en diversas especies de plantas de la familia Solanacea. Tanto el sustrato de la enzima —hiosciamina— como sus productos —anisodamina y escopolamina— poseen propiedades farmacológicas y son utilizados como principios activos en diferentes fármacos. El método de producción actual se basa en el cultivo de las plantas y su posterior extracción. Sin embargo, la planta no es capaz de producir anisodamina y escopolamina —

esta última de mayor valor comercial— en elevadas concentraciones aun encontrándose presente su precursor.

En este trabajo se investiga la utilización in vitro de la H6H proveniente de la planta *Brugmansia candida* fusionada a un dominio de afinidad a quitina (ChBD) e inmovilizada en partículas de hidrogel de quitina con el objetivo de transformar hiosciamina en sus productos. Para ello, la construcción ChBD-H6H se clonó en el vector pET-22(b) y se expresó de forma recombinante en cepas de *E.coli* Origami (DE3). Posteriormente, se evaluó la inmovilización y actividad enzimática utilizando buffer Tris-ClH 50 mM pH 7,6 en dos condiciones de fuerza iónica diferente, A=750 mM (n=3) y B=1 M NaCl (n=2). Cada inmovilización se llevó a cabo por exposición de los extractos de proteína solubles clarificados con las matrices de quitina en una relación 1,5 ml volumen de matriz – 3 mg proteínas solubles totales, evaluándose la unión específica de la enzima ChBD-H6H mediante SDS-PAGE teñidos con azul brillante de Coomassie y Western-Blot contra la proteína H6H. De forma seguida, las enzimas inmovilizadas fueron sometidas a cinco ciclos de reacción (24h/ciclo, 30°C, 200 rpm) y la conversión de hiosciamina fue evaluada mediante cromatografía líquida de alta performance. El porcentaje de bioconversión a anisodamina comparando las condiciones A y B en los ciclos de reacción 1 ($75,9 \pm 3,6$ vs $31,0 \pm 2,5$) y 2 ($53,7 \pm 2,0$ vs $35,8 \pm 0,8$) fue significativamente diferente ($p < 0,05$). De igual manera, la obtención de escopolamina (%) fue significativamente diferentes ($p < 0,05$) entre ambas condiciones para los ciclos de reacción 1 ($2,5 \pm 0,4$ vs $0,3 \pm 0,1$) y 2 ($1,4 \pm 0,2$ vs $0,5 \pm 0,04$). A partir del ciclo 3, las conversiones no fueron significativamente diferentes para ninguno de los productos, obteniéndose para anisodamina los siguientes valores para las condiciones A y B, respectivamente: ciclo 3 ($34,3 \pm 1,7$ vs $29,1 \pm 5,0$); 4 ($23,4 \pm 0,7$ vs $22,6 \pm 1,4$) y 5 ($7,2 \pm 1,8$ vs $8,4 \pm 0,8$).

En conclusión, se demuestra la capacidad de la enzima de fusión ChBD-H6H de unirse a matrices de quitina y la viabilidad de este sistema para su uso en ciclos sucesivos de producción de anisodamina y escopolamina. Por otro lado, se describe la condición más favorable para su inmovilización y utilización, lo cual además sienta las bases para los futuros ensayos en los que se evalúe la tolerancia a diferentes condiciones operacionales.

BV20. Selección de macrófitas acuáticas para la fitorremediación de efluentes domiciliarios y de curtiembre de la Provincia de Córdoba

Quevedo, M.R.*; González, P.S.; Paisio, C.E.

Dpto. Biología Molecular, FCEFQyN, UNRC - INBIAS CONICET- Ruta 36 Km 601- Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *mquevedo@exa.unrc.edu.ar

La contaminación del agua por materia orgánica se ha incrementado en las últimas décadas debido a la creciente industrialización y urbanización. Para contrarrestar este efecto, la fitorremediación se presenta como una estrategia de relevancia debido a su potencial como tecnología no invasiva y rentable.

En este trabajo, se recolectaron distintas macrófitas acuáticas a partir de dos sitios contaminados. Uno de los sitios de recolección fue un humedal ubicado sobre el Río Cuarto, el cual recibe aportes de residuos domiciliarios, mientras que el segundo sitio de recolección correspondió a un humedal que se encuentra en el arroyo El Barreal, en la Localidad de Elena, el cual recibe vertidos de efluentes de una curtiembre. En estos sitios se recolectaron diversas macrófitas acuáticas flotantes y palustres, las cuales fueron evaluadas en cuanto a su capacidad de crecer in vitro, en invernadero, a fin de multiplicarlas y obtener abundante biomasa. Entre ellas, una mezcla de especies acuáticas flotantes, que fueron identificadas como *Lemna gibba*, *Lemna minuta* y *Wolffia columbiana* y una especie palustre, *Schoenoplectus americanus*, fueron las que demostraron mejor adaptación a las nuevas condiciones de crecimiento, estableciéndose que las especies flotantes sobreviven y se reproducen eficientemente en hidroponía con agua de napa freática mientras que *S. americanus* lo hace enraizada en tierra y anegada con la misma agua. Con el propósito de evaluar el potencial de estas plantas para su uso en fitorremediación, se utilizaron dos efluentes, un efluente domiciliario de las residencias de la UNRC y otro efluente de curtiembre de la localidad de Elena. En primera instancia se estudió la tolerancia de las macrófitas a distintas concentraciones de ambos efluentes (puro, 1/2, 1/5 y 1/20) en condiciones de invernadero. Se pudo observar que ninguno de los sistemas vegetales mostraron impactos significativos sobre su viabilidad y producción de biomasa cuando fueron expuestos al efluente domiciliario puro, mientras que con el efluente de curtiembre sólo se observó viabilidad en la dilución 1/20, para ambas

especies. Posteriormente, utilizando estas diluciones, se realizaron ensayos preliminares de remoción de materia orgánica (cuantificada como Demanda Química de Oxígeno, DQO), utilizando la mezcla de macrófitas flotantes. Se determinó que la eficiencia de remoción a partir de efluentes de curtiembre, conteniendo inicialmente una DQO promedio de 140 mg/L, fue de un 60%, porcentaje mayor al obtenido con la atenuación natural (flora nativa del efluente) que fue de un 44% luego de 7d de incubación. En tanto que este sistema vegetal no mostró remoción significativa de DQO al tratar efluentes domiciliarios. Es de aclarar que los resultados de remoción son preliminares y se continúa estudiando estos sistemas de remoción. Se considera realizar ensayos de fitorremediación de efluentes domiciliarios utilizando a *S. americanus*, la cual evidenció una elevada tolerancia a los mismos.

BV21. Modulación del ciclo de cultivo de *Solanum tuberosum*:

Identificación de los componentes del reloj circadiano

Storani, L. (1, 2)*; Rey Burusco, M.F. (1,3); Hernando, C.E. (2,4); Massa, G.A. (1, 2, 3); Yanovsky, M.J. (2,4); Feingold, S.E. (1).

(1) Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS Balcarce), INTA, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Facultad de Ciencias Agrarias, UNMdP, Argentina. (4) Instituto Fundación Leloir, Argentina. *storani.leonardo@inta.gob.ar

La papa (*Solanum tuberosum*) es la principal dicotiledónea en la alimentación humana. El órgano de cosecha de la papa es el tubérculo, el cual se forma mediante el proceso de tuberización, que depende de factores genéticos y ambientales. El acortamiento de los días es una de las señales de inicio de la tuberización. El incremento del fotoperíodo retrasa el inicio de la tuberización, en muchos casos inhibiéndola por completo. Estos condicionantes ambientales limitan las áreas de producción del cultivo impidiendo que algunos genotipos sean cultivados en determinadas zonas. Los relojes circadianos son temporizadores endógenos que permiten sincronizar procesos biológicos con condiciones ambientales diarias y estacionales, para ajustar los tiempos fenológicos a las

épocas favorables del año. El reloj circadiano regula un gran número de actividades, entre las que se encuentran la floración y la tuberización, que a su vez dependen de la interacción con factores ambientales externos como el fotoperíodo.

La hipótesis de nuestro trabajo es que mediante la modificación en la expresión de genes asociados al reloj circadiano, es posible modular el ciclo de cultivo de *S. tuberosum*. Empleando herramientas bioinformáticas identificamos genes que componen el reloj circadiano de los cuales seleccionamos 8: StRVE8, StELF4, StCCA1, StTOC1, StPPR5, StPPR9, StG y StLNK1. Medimos su expresión por qPCR durante 48 horas en condiciones de luz continua. Todos los genes analizados mostraron patrones de expresión circadianos, coincidentes con los observados en la *Arabidopsis thaliana*. Clonamos la secuencia codificante del gen StRVE8 en un vector binario (pCHF3) para realizar transformaciones genéticas vía *Agrobacterium tumefaciens* en dos genotipos de *S. tuberosum* con diferente respuesta al fotoperíodo; el cv. Désirée del grupo *Tuberosum*, insensible a la inducción fotoperiódica, y el genotipo A7450 del grupo Andígena, fuertemente regulado por la longitud del día. Debido a que el movimiento de hojas está controlado por el reloj circadiano, una alteración en el mismo provocaría un movimiento de hojas diferente. Para comprobarlo, a partir de las líneas transgénicas obtenidas, seleccionamos los 3 eventos de cada genotipo que presentaron mayor expresión del gen StRVE8 y analizamos el movimiento de las hojas respecto a las plantas sin transformar. Mientras que en las plantas sin transformar el movimiento de hojas mostró un patrón circadiano, 2 de los 3 eventos transgénicos de cada genotipo fueron arrítmicos. Por último, con el objetivo de obtener una expresión disminuida de StRVE8, transformamos plantas de ambos genotipos con un amiRNA de StRVE8, los cuales se analizarán tanto molecular como fisiológicamente. En futuros ensayos se analizará la expresión de los otros genes del reloj y el fenotipo de tuberización en las líneas sobreexpresantes y en las silenciadas para determinar si el gen StRVE8 es un buen candidato para modular el ciclo de cultivo de *S. tuberosum*.

BV22. Obtención de plantines de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) mediante micropropagación in vitro

González, G.; Rudoy, V.; Merino, L.*

Universidad Nacional de Hurlingham. *lina.merino@unahur.edu.ar

La micropropagación *in vitro* es una técnica que permite la producción a gran escala de gran variedad de plantas, independientemente de la temporada o de las condiciones ambientales de cultivo. Permite ingresar cultivos nuevos en zonas que no se encontraban y generar plantas genéticamente homogéneas, lo cual es una ventaja a la hora de producir plantas de buena calidad para el mercado. En estas técnicas de reproducción asexual resulta necesario partir de material (planta madre) libre de patógenos y sanidad controlada y durante el proceso es esencial el mantenimiento de la esterilidad. El yacón (*Smallanthus sonchifolius*) es una planta originaria de la región Andina de Sudamérica, de la familia Asteraceae, que crece a lo largo de los Andes desde Colombia hasta Argentina. El cultivo de yacón es valorado por sus propiedades medicinales debido a su acción hipoglucemiante y por sus propiedades nutricionales ya que las raíces tuberosas son una de las principales fuentes naturales de fructooligosacáridos (FOS), características que lo llevan a ser considerado un alimento funcional. Sin embargo, el material genético del yacón no se puede conservar en forma de semillas, debido a su alta esterilidad. Esta especie se propaga convencionalmente mediante división de coronas de raíces, hijuelos y esquejes lo que puede implicar riesgos para la transmisión de problemas fitosanitarios, enfermedades bacterianas y/o virales virus. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la multiplicación de yacón mediante la técnica de micropropagación *in vitro* a partir de yemas axilares, evaluando el efecto del tiempo de subcultivo entre multiplicaciones, y de la adición de la hormona 6-bencilaminopurina (BAP) al medio de cultivo sobre la tasa de multiplicación de yacón. Los explantes fueron sembrados en medio Murashige & Skoog (MS) suplementado con distintas concentraciones de BAP en medio agarificado semisólido y en Sistemas líquidos de Inmersión Temporal (SIT) tipo frascos gemelos. El crecimiento de los explantes se realizó en condiciones controladas de temperatura, fotoperíodo y tiempo de inmersión (SIT). Además, se evaluaron las condiciones de temperatura y humedad durante la aclimatación de los explantes para la obtención de plantines de yacón aptos para la producción de plantas en vivero o a campo. La concentración de BAP en el medio de cultivo influyó significativamente sobre la tasa de multiplicación de yacón. La tasa de

multiplicación de yacón más alta se obtuvo en medio MS 0,1 g/L BAP obteniéndose una tasa de multiplicación de 4,73 en medio semisólido y una tasa de multiplicación de 10 en SIT a los 35 días de subcultivo. El medio de cultivo sin hormona resultó adecuado para la obtención de explantes enraizados. En la aclimatación resultó fundamental mantener la humedad al 100% y una temperatura de 27°C durante las primeras semanas para maximizar la tasa de supervivencia de las plantas.

BV23. Efectividad de la acción combinada de quitosano y la bacteria PGPR *Pseudomonas protegens* CHA0 en el crecimiento de plantas de tomate

Mesas, F.A.*; Terrile, M.C.; Casalongué, C.A.; Mendieta, J.R.

Instituto de Investigaciones Biológicas (UE-CONICET-UNMdP), Argentina.

*mesasflores@gmail.com

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) forman parte de la microbiota del suelo y al asociarse con la planta promueven su crecimiento mediante diferentes estrategias. *Pseudomonas protegens* CHA0 (ex-*P. fluorescens*) es una bacteria PGPR que produce una variedad de metabolitos secundarios con funciones antibióticas sobre microorganismos fitopatógenos. Por lo tanto, las PGPR se han propuesto como una alternativa natural para reemplazar el uso de fertilizantes y pesticidas químicos que perjudican la salud humana y el ambiente. El quitosano (Q) es un polímero de origen natural que se ha convertido en una herramienta prometedora en la agricultura moderna por sus propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad y bioactividad. El objetivo de este trabajo fue estudiar la acción del Q en la interacción de la PGPR *P. protegens* CHA0 con las raíces de plantas de tomate. Se realizó un análisis dosis-respuesta del Q sobre la colonización de las raíces por *P. protegens* CHA0. El tratamiento de las plántulas con Q 5 µg/ml favoreció la colonización radicular de *P. protegens* CHA0, incrementando el número de UFC/gr de raíz respecto del control no tratado. Seguidamente, se analizaron parámetros del crecimiento vegetal. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que el Q favorece la colonización de la PGRP con el consecuente efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate.

El efecto del Q sobre la formación de biofilm y la producción de sideróforos por parte de *P. protegens* CHA0 así como también, su efecto en la producción de exudados vegetales son algunas de las características que actualmente se están ensayando. Estos resultados nos permitirán avanzar sobre el desarrollo de un bioestimulante combinado de Q y *P. protegens* CHA0 para mejorar el enraizamiento de plantas de tomate.

BV24. Nuevos productos de protección vegetal basados en nanoarcillas funcionalizadas

Salcedo, M.F. (1); Colman, S.L. (1), Iglesias, M.J. (1); Merino, D. (2); Alvarez, V.A. (2), Casalongué, C.A. (1)*, Mansilla, A.Y. (1).

(1) Instituto de Investigaciones Biológicas, UE CONICET-UNMDP, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.

(2) Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, UE

CONICET-UNMDP, Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. *casalong@mdp.edu.ar

En general, las prácticas agrícolas que se desarrollan en nuestro país implican un uso intensivo de agroquímicos que conllevan a diversos daños ambientales. En este sentido, la obtención y aplicación de nuevos productos provenientes de recursos naturales constituyen herramientas alternativas a dicha problemática.

Las arcillas son nanomateriales provenientes de recursos naturales abundantes en nuestro país. Debido a su estructura en láminas son capaces de albergar una gran variedad de moléculas en sus espacios interlaminares. El objetivo general de nuestro proyecto es utilizar nanoarcillas del tipo bentonita (Bent) como recurso natural y de origen nacional para vehiculizar principios activos que impactan en el mejoramiento del crecimiento y rendimiento de las plantas incluyendo la protección de las plantas frente a estrés ambiental. Se desarrollaron y caracterizaron Bent Funcionalizadas con ácido salicílico (AS), quitosano (Q) y prolina (Pro), las cuales demostraron protección frente a estrés biótico mediado por *Pseudomonas syringae* Pv. tomato DC3000 y salinidad. Se evaluaron distintas formulaciones basadas en cada uno de los principios individuales y ciertas

combinaciones posibles, para estudiar los efectos aditivos y/o sinérgicos que podrían establecerse entre dichas matrices. El tratamiento de semillas de tomate combinando Bent-Q, Bent-AS y Bent-Pro, favoreció tanto la germinación representando un aumento del 40% respecto al control como al crecimiento inicial de las plántulas en condiciones de estrés salino. También se exploró el efecto de la aplicación foliar de Bent-Q a plantas de lechuga, para determinar su acción bioestimulante. Las plantas tratadas con Bent-Q evidenciaron un incremento en el peso seco del 35% y en el contenido de clorofila del 10%, con respecto a las plantas control. En conclusión, los resultados fueron promisorios para proponer a las Bent funcionalizadas con Q como bioestimulante e insumos innovadores de alta versatilidad e inocuidad ambiental.

BV25. Identificación de viroides en la región citrícola de Río Uruguay

Joris, G. (1)*; Conti, G. (2); Gomez, C.A. (1); Marmisolle, F.E. (3); Reyes, C.A. (3)

(1) Estación Experimental Agropecuaria Concordia, INTA, Argentina. (2) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA CONICET, Argentina. (3) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CCT-La Plata, CONICET—UNLP, Argentina. *joris.giovanna@inta.gob.ar

Los viroides son pequeños patógenos de plantas superiores compuestos por una única molécula de ARNsh circular desnuda cuya longitud oscila entre 246-401 nucleótidos. Su molécula de ARN no codifica ninguna proteína por lo que depende enteramente del hospedero para replicarse. Los viroides pueden clasificarse en dos familias, dependiendo de la conservación de la secuencia: *Pospiviroidae* y *Avsunviroidae*. Según informó el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV), los viroides que infectan cítricos pertenecen a la familia *Pospiviroidae*. Estos son *Citrus bent leaf viroid* (CBLVd), *Citrus dwarfing viroid* (CDVd), *Citrus viroid V* (CVd-V), *Citrus viroid VI* (CVd-VI), *Citrus bark cracking viroid* (CBCVd), *Hop stunt viroid* (HSVd) y *Citrus Exocortis viroid* (CEVd). En Argentina, hasta la fecha se ha reportado la presencia de varios de estos viroides, tanto en el NEA como en el NOA. Con el fin de actualizar los datos de la presencia de viroides en la región citrícola del Río Uruguay, desde INTA Concordia se está realizando un

estudio sistemático de los mismos. Se recolectaron muestras provenientes del macizo citrícola comprendido por los departamentos de Concordia y Federación en Entre Ríos, y el departamento de Monte Caseros en el sur de Corrientes. Las muestras se tomaron de plantas de naranjo (*Citrus sinensis*) con marcada sintomatología asociada a viroides que consiste principalmente en enanismo y descortezado en el pie. De cada planta se tomaron 12 varetas, 3 por cada cuadrante, y con las mismas se inocularon plantines de Cidra Etrog Arizona 861-S-1 (*Citrus medica*) mediante injertos de secciones de corteza. Se utilizan estos plantines porque son muy susceptibles a los viroides lo que permite expresar bien los síntomas y acumularlos en niveles detectables según las metodologías empleadas. Se extrajo una sección de corteza por cada vareta y, mediante injertos, se inocularon 4 plantines de *C. Etrog*, cada uno con 3 secciones. Estas plantas se mantuvieron en invernáculo a 28-32°C durante 5 meses para luego ser analizadas mediante diagnóstico biológico, electroforesis secuencial (sPAGE) y RT-qPCR de manera de identificar los viroides presentes. Los síntomas en estos son variados y de distintas intensidades según la especie del viroide, la variante y si están solos o en mezclas. Principalmente se observa epinastia de hojas, amarronamiento de pecíolos y nervaduras, amarronamiento de la punta de hojas, presencia de goma debajo de la corteza y exudado de goma. Para el diagnóstico mediante sPAGE, se partió de material de las plantas de *C. Etrog* inoculadas y mantenidas por 5 meses. Analizando estos resultados, se identificaron hasta la fecha las especies CEVd, HSVd y CDVd en esta zona citrícola del país. Se confirmará la identidad de los viroides encontrados mediante RT-qPCR y secuenciación, que permitirá además identificar cambios en el genoma respecto a las variantes ya publicadas provenientes de otras zonas geográficas.

BV26. Variabilidad genética y mapeo por asociación para tamaño y forma de grano de trigo candeal (*Triticum turgidum* L. var. *durum*)

Achilli, A.L.; Roncallo, P.F.; Echenique, V.*

Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. *echeniq@criba.edu.ar

El tamaño y la forma del grano son caracteres claves que se han encontrado asociados al peso final de los granos. En este estudio se evaluó la variación del tamaño y la forma del grano de trigo candeal (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) y se estudiaron sus bases genéticas a través del Mapeo por Asociación. El largo, el ancho, el perímetro, el área y la forma del grano (relación ancho/largo) fueron evaluados en una población de 170 genotipos testeados en condiciones de campo. Estos materiales vegetales fueron genotipados con el Array de marcadores 35K (AFFIMETRIX), a partir del cual se utilizaron para este estudio 3.526 marcadores polimórficos de nucleótido simple (SNPs). La heredabilidad en sentido estricto fue de 0,67 para el largo del grano, 0,42 para el ancho del grano, 0,25 para el perímetro, 0,53 para el área y 0,55 para la relación ancho/largo de grano. Se observaron diferencias significativas entre genotipos para los cinco caracteres en estudio. Las medias observadas fueron de 7,7 mm ($\pm 0,4$ mm) para el largo del grano, 3,5 mm ($\pm 0,18$ mm) para el ancho de grano, 23,9 mm ($\pm 1,38$ mm) para el perímetro, 20,7 mm² ($\pm 1,86$ mm²) para el área y 0,45 ($\pm 0,03$) para la relación ancho/largo de grano. Las correlaciones entre caracteres variaron en un rango de -0.57 entre el largo del grano y la relación ancho/largo de grano, y 0.85 entre el perímetro y el área. El mapeo permitió identificar un total de 12 SNPs asociados con el tamaño y la forma del grano: 6 para área (1A, 2A, 3B, 7A y 7B), 2 para largo del grano (2B y 3B) y 4 para la relación ancho/largo de grano (1B, 3A, 4B y 5B), mientras que no se observaron asociaciones para el perímetro y el ancho del grano. Algunas de estas regiones genómicas estuvieron asociadas con más de un carácter, observándose SNPs asociados al área y largo del grano en el cromosoma 3B. Con el fin de evaluar la variación genotipo x ambiente y entender mejor las bases moleculares de los caracteres en estudio se compararon los resultados provenientes de distintos ambientes. Futuros esfuerzos en validar estos loci ayudarán a entender su rol en la determinación del tamaño y la forma del grano y posibilitarán su adopción en programas de mejoramiento.

BV27. Caracterización de la región genómica ligada al locus determinante de la apomixis en *Eragrostis curvula*

Carballo, J. (1)*; Zappacosta D. (1); Gallardo, J. (1); Selva, J.P. (1,2); Gallo, C.A. (1,3); Garbus, I. (1,4); Albertini E. (5); Caccamo, M. (6); Echenique V. (2).

(1) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS) y Departamento de Agronomía - Universidad Nacional del Sur-CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) Dpto. de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (3) Dpto. de Ciencias e Ingeniería de la Computación, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (4) Dpto. de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (5) Department of Agricultural, Food and Environmental Science, University of Perugia, Perugia, Italy. (6) NIAB, Cambridge, Reino Unido.
[*jcarballo@cerzos-conicet.gob.ar](mailto:jcarballo@cerzos-conicet.gob.ar)

Eragrostis curvula es una gramínea forrajera, naturalizada en regiones semiáridas de Argentina, que se caracteriza por contar con genotipos sexuales, apomícticos obligados y apomícticos facultativos. La apomixis está condicionada por una

región que regula el carácter, presente sólo en individuos apomícticos. Con el objetivo de identificar esta región y los genes que la componen se secuenciaron distintos genomas de *E. curvula*. El primer paso consistió en secuenciar y ensamblar genotipos con distintos modos reproductivos. Así, se secuenció el genoma del cultivar diploide sexual Victoria ($2n=2x=20$, 620 Mb), combinando las tecnologías PacBio, Chicago y Hi-C. También se secuenciaron los tetraploides apomícticos facultativos ($2n=4x=40$, 1200 Mb) Don Walter, utilizando las tecnologías Chormiun 10X y Oxford Nanopore, y Tanganyika INTA a través de la tecnología Illumina. De esta manera se obtuvo un genoma de excelente calidad en Victoria (N50: 43 Mb), de alta calidad en Don Walter (N50: 224.339 pb) y moderada en Tanganyika INTA (N50: 4.715 pb). Por otro lado, a través de la tecnología de genotipado por secuenciación (GBS) se construyó un mapa de ligamiento a partir de una población F1 proveniente de la cruce de un genotipo tetraploide apomíctico facultativo (donante de polen) y un genotipo sexual. En este mapa se identificaron 40 grupos de ligamiento en cada parental representando sus respectivos cromosomas. Dentro del grupo de ligamiento 3 del cultivar Don Walter se identificó una región ligada a la apomixis delimitada por cuatro marcadores. Combinando el genotipado por GBS con la secuenciación de los genomas fue posible identificar los marcadores ligados a la apomixis en cada uno de los genomas. De esta manera se comprobó que en los genomas apomícticos

existen regiones que no están presentes en el genoma sexual. Dentro de esas regiones se encontraron genes vinculados a mecanismos epigenéticos, genes reguladores de las vías reproductivas y otros genes no caracterizados funcionalmente que podrían estar relacionados al desarrollo reproductivo. La validación funcional de estos genes indica que estarían vinculados a mecanismo apomícticos, sin embargo se encuentran aún en estudio. La identificación de esta región y sus genes representa un avance en términos de este peculiar modo reproductivo. Finalmente se espera en el corto plazo mejorar el ensamblado de los genomas apomícticos para aumentar la resolución de la región condicionante del carácter, descubrir genes y regiones no codificantes y proponer un mecanismo de acción.

BV28. Análisis genéticos en *Bacharis salicifolia* (Asteraceae) utilizando marcadores AFLPs

Soldati, M.C. (1,2)*; Simon, I.J. (3); Morales, M. (1,4).

(1) Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, CNIA, INTA, Argentina. (2) ESCEyN, Universidad de Morón, Argentina. (3) Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Hurlingham, Argentina. (4) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. *soldati.maria@inta.gob.ar

Bacharis salicifolia, coloquialmente conocido como chilca, es un arbusto erecto, algunas veces postrado, que forma matorrales densos. Se encuentra presente desde Estados Unidos hasta Chile y Argentina, con una amplia distribución en nuestro país. Su hábitat principal son los montes del espinal y las orillas de ríos y arroyos, pero aparece frecuentemente en hábitats perturbados, como bordes de cultivo o banquinas de caminos rurales. Tiene acción repelente contra el gorgojo rojo, plaga mundial de granos almacenados, por lo que sería de gran interés para el mercado agropecuario. En este trabajo se obtuvieron datos genéticos de la especie utilizando marcadores AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*), nunca antes utilizados para su análisis. Se analizaron 24

individuos de la especie colectados en la provincia de Entre Ríos, distribuidos en tres categorías: parche de monte (PM), ribera de arroyo (RA) y borde de cultivo (BC). Se evaluaron 8 combinaciones de AFLPs (E+3/M+3) para seleccionar aquellas que permitieran detectar un mayor polimorfismo. Cuatro combinaciones fueron seleccionadas por sus patrones de amplificación, permitiendo observar un total de 146 loci polimórficos. Los niveles de diversidad genética (UHe) fueron variables para los grupos, siendo menores para las muestras de los BC (UHePM: 0.76, UHeRA: 0.68, UHeBC: 0.49). La diferenciación genética entre categorías (AMOVA) fue del 6% ($p=0.001$). Estos resultados revelarían que existe una pérdida de diversidad genética en la chilca en Entre Ríos y que la misma estaría asociada a la fragmentación del bosque.

BV29. Familia de genes Snakin/GASA de *Solanum tuberosum*: estudio funcional de Snakin-3

Nahirñak, V.*; Almasia, N. I.; Vazquez-Rovere, C.

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA, Argentina.

*nahirnak.vanesa@inta.gob.ar

Los péptidos antimicrobianos (AMPs) se caracterizan por presentar un amplio espectro de actividad antimicrobiana y ser eficaces a bajas concentraciones. Las proteínas Snakin/GASA son AMPs que han sido identificadas en un gran número de especies de plantas aunque sus funciones no se conocen completamente. Se ha descrito su participación en diversos aspectos del desarrollo y tolerancia a estreses bióticos o abióticos. En papa se han caracterizado funcionalmente Snakin-1 y Snakin-2. A partir del estudio funcional de Snakin-1 nuestro grupo demostró su actividad *in vivo* frente a *Rhizoctonia solani* y *Erwinia caratovora*. Asimismo, demostramos que este péptido tiene un rol dual tanto en defensa como en desarrollo. Los análisis posteriores sugirieron que Snakin-1 cumple su rol mediante la modulación de las especies reactivas de oxígeno y el balance hormonal en la planta. Por otro lado, observamos que los extractos crudos obtenidos a partir de líneas sobreexpresantes de Snakin-2 presentan actividad antifúngica frente a *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani*.

A partir de la información disponible luego de la secuenciación del genoma de la papa identificamos 15 nuevos miembros de la familia Snakin/GASA que se suman a los tres genes previamente identificados (Snakin-1, Snakin-2 y Snakin-3) sugiriendo que en esta especie esta familia consiste en al menos 18 miembros. El análisis filogenético reveló que estas proteínas forman tres grupos siendo Snakin-1, Snakin-2 y Snakin-3 miembros de diferentes subfamilias. Los datos obtenidos hasta el momento muestran una regulación diferencial de la expresión de Snakin-3 con respecto a Snakin-1 y Snakin-2, lo cual puede sugerir una diferenciación funcional. Por otro lado, se ha demostrado que la acción combinada de más de un péptido antimicrobiano puede tener un efecto aditivo o incluso mostrar sinergismo. En este sentido, es probable que la expresión de Snakin-3 en combinación con otro péptido antimicrobiano permita obtener resistencia contra múltiples patógenos.

En este contexto y con el objetivo de profundizar la caracterización funcional de los genes Snakin/GASA, nos propusimos estudiar el rol de un miembro de la 3^o subfamilia (Snakin-3) en el desarrollo y respuestas de la planta frente a diversos estreses. Teniendo en cuenta que las proteínas deben localizarse en el compartimento subcelular apropiado para cumplir su rol, se estudió la localización de Snakin-3 como primera aproximación para dilucidar su función. A pesar de la presencia de un péptido señal putativo no todas las proteínas Snakin/GASA están direccionadas a la pared celular y/o matriz extracelular. Los resultados obtenidos indican que Snakin-3 se localiza en retículo endoplasmático. Para profundizar el estudio del patrón de expresión de Snakin-3, se realizó un estudio *in silico* de la secuencia correspondiente a 1500 pb río arriba del ATG y se identificaron elementos regulatorios relacionados a hormonas y de respuesta a estreses (principalmente abióticos).

BV30. Un abordaje molecular para entender el proceso de transferencia viral vía plasmodesmos durante la infección sistémica de ADV en alfalfa

Jaime, C.L. (1,2); González, G. (2); Mázzaro, V. (2); Dunger, G. (1,2)*.

(1) Instituto de Ciencias Agropecuarias del Litoral, UNL, CONICET, Argentina. (2)

Facultad de Ciencias Agrarias, UNL, Argentina. *gdunger@fca.unl.edu.ar

También conocida como la reina de las forrajeras, la alfalfa (*Medicago sativa* L.) es una leguminosa perenne rica en minerales y vitaminas. Argentina es uno de los principales productores mundiales de alfalfa, con alrededor de 3.2 millones de hectáreas cultivadas. Esto refleja la importancia de este cultivo para nuestra economía, siendo utilizado principalmente para la alimentación del ganado lechero y en la producción de alimento para otros animales. Una enfermedad importante que afecta a este forraje es el achaparramiento de la alfalfa, infección causada por un complejo de cinco virus, entre ellos el virus del enanismo de la alfalfa (ADV). Este virus tiene una prevalencia en nuestro país de más del 70% y ocasiona pérdidas de la producción que rondan el 30% debido al fenotipo enano de las plantas infectadas, las cuales presentan entrenudos acortados, arrugas foliares y enaciones en la superficie foliar. El ADV pertenece a la familia *Rhabdoviridae* y ha sido agrupado en el género *Cytorhabdovirus*. El genoma de ARN monocatenario de sentido negativo de este virus contiene 14.491 nucleótidos y codifica siete proteínas: proteína nucleocapsidial (N), fosfoproteína (P), proteína de movimiento (P3), proteína de matriz (M), glicoproteína (G), la ARN-polimerasa ARN dependiente (L) y P6, de función aún desconocida.

La mayoría de los virus vegetales utilizan proteínas de movimiento (MP) para favorecer la propagación célula-célula y finalmente la infección sistémica de la planta. Este mecanismo se basa en la capacidad de la MP para inducir un cambio estructural en los plasmodesmos de manera de aumentar el tamaño y permeabilidad. Mediante ensayos de dobles híbridos en levadura identificamos una de las proteínas de alfalfa que interaccionaría con la proteína viral P3. Mediante análisis *in silico*, utilizando softwares especializados, pudimos predecir las regiones aminoacídicas de contacto entre las dos proteínas. Actualmente estamos purificando las dos proteínas para confirmar la interacción a través de ensayos de interacción proteína-proteína *in vivo*. Estos resultados facilitarán el desarrollo de estrategias biotecnológicas para prevenir la circulación de ADV en un cultivo de gran importancia económica como es alfalfa.

BV31. Evaluación de la resistencia a patógenos y caracterización metabólica de cultivares de papa producidos en el Cinturón Hortícola de Rosario

Martínez, M.F. (1)*; Tasselli, S. (1); Juarez, M. (2); Mondino, M.C. (3,4); Tion, M. (4); Segretin, M.E. (2); Zanol, M.I. (1); Marano, M.R. (1); Martin, A.P (1).

(1) Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario, CONICET-UNR, Argentina. (2) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, CONICET, Argentina (3) Agencia de Extensión Rural - Arroyo Seco, INTA, Argentina. (4) Facultad de Ciencias Agrarias, UNR, Argentina.

*martinez@ibr-conicet.gov.ar

En el Cinturón Hortícola de Rosario la producción local de papa alcanza las 1200 ha. Los productores establecen la identidad de los distintos cultivares mediante parámetros morfológicos. Sin embargo, la carencia de trazabilidad genética de los mismos genera una problemática para la actividad.

En este trabajo se estudiaron los cultivares de papa producidos en el Cinturón Hortícola de Rosario (*Solanum tuberosum* cv. Innovator, cv. Spunta, cv. Atlantic, cv. Kennebec y cv. Pampeana-INTA). A partir del análisis de correspondencias múltiples entre las variables fenotípicas, se demostró que la utilización de parámetros morfológicos por sí solos no son suficientes para identificar inequívocamente los cultivares. Por otro lado, utilizando técnicas de biología molecular como RAPD-PCR y la amplificación de regiones microsatélite, se logró asignar la identidad de los mismos. Paralelamente, se evaluó la respuesta de defensa frente al virus X de la papa (PVX) y el oomicete *Phytophthora infestans*. Los ensayos de infección con la cepa PVX-ROTH1 fusionada a GFP y con *P. infestans* permitieron establecer el grado de resistencia/susceptibilidad de los distintos cultivares a estos patógenos, siendo Spunta y Kennebec los más susceptibles e Innovator el más resistente. También se analizó el contenido de almidón en hojas y en tubérculos. Se determinó que el contenido de almidón foliar no varía entre cultivares, pero sí existen diferencias a nivel de tubérculo; siendo menor en el cultivar susceptible Spunta. Por otro lado, se realizó un estudio de metabolómica de tejido foliar de Innovator, Spunta y Kennebec mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN), lo que permitió identificar compuestos diferenciales como trigonelina y triptófano entre los mismos. Los resultados obtenidos sugieren que la inducción de determinadas vías metabólicas en los distintos cultivares, como la de los indolglucosinolatos, podría estar asociada con la respuesta de defensa a estos patógenos.

Los resultados obtenidos a partir de este estudio permiten a los productores de papa de la zona contar con el conocimiento necesario para mejorar la producción regional del cultivo, tanto en su comportamiento sanitario como en sus propiedades nutricionales.

BV32. Caracterización de péptidos antimicrobianos de origen endógeno como estrategia biotecnológica para mitigar el impacto del Huanglongbing y otras enfermedades bacterianas de cítricos

Conte, M. (1); Costa, P. (2); Nahirñak, V. (1); Almasia, N. (1); Vázquez-Rovere, C. (1); Reyes, C.A. (3); Gochez, A.; Canteros, B.I., Hopp, H.E. (1); Conti, G. (1,2)*.

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA-CONICET, Argentina. (2) Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina. (3) Instituto de Biotecnología y Biología Molecular, CONICET-UNLP, Argentina. (4) Laboratorio de Patología de Cítricos, EEA INTA Bella Vista, Corrientes.

*conti.gabriela@inta.gob.ar

Los cítricos son severamente afectados por distintos tipos de patógenos bacterianos, fúngicos y virales. Entre las enfermedades cuarentenarias provocadas por bacterias se encuentran la Cancrosis, la Clorosis Variegada de los Cítricos y la enfermedad más devastadora a escala mundial, el Huanglongbing (HLB), cuya incidencia ha provocado estragos en la producción citrícola. Dicha enfermedad es causada por la bacteria *Candidatus Liberibacter* spp., que es parásita obligada de floema y es transmitida por un insecto vector, el psílido *Diaphorina citri*. En Argentina se han detectado hasta la fecha 697 plantas con diagnóstico positivo, que han sido inmediatamente erradicadas, ya que hasta el momento no se cuenta con variedades resistentes ni tratamientos efectivos frente a la enfermedad. Como estrategias de manejo, la ingeniería genética ofrece alternativas muy promisorias. Entre ellas, la expresión transgénica de péptidos antimicrobianos (AMPs) de origen vegetal en variedades de portainjertos podría ser efectiva como alternativa para reducir la multiplicación bacteriana temprana, en el tejido radicular, y de ese modo, mitigar el impacto de la enfermedad. En trabajos previos del equipo se desarrollaron portainjertos de la variedad Citrange

troyer sobreexpresantes de Snakin-1 de *Solanum tuberosum*, un péptido cuyos efectos antimicrobianos han sido demostrados en otras especies. Se desarrollaron 10 líneas transgénicas sobreexpresantes que mostraron tolerancia a Cancrosis y actualmente se está tramitando la habilitación para evaluar estas líneas transgénicas frente a la enfermedad HLB. Otra estrategia planteada por el grupo consiste en la caracterización y evaluación de AMPs de origen endógeno. De este modo, la sobreexpresión de dichos genes permitirá explorar nuevas formas de reducir la replicación bacteriana a través del desarrollo de organismos intragénicos. En el presente trabajo se muestran datos obtenidos luego del clonado y secuenciación de genes de la familia Snakin-GASA de cítricos, en variedades de limón (*Citrus limon*), naranja valencia (*Citrus sinensis* 'valencia') y citrumelo (*C. paradisi* x *P. trifoliata*). Se caracterizaron estructuralmente las secuencias obtenidas y se determinaron los niveles de transcripción de algunas de ellas en distintos órganos y tejidos de cítricos. El fin de estos estudios es encontrar nuevos candidatos con poder antimicrobiano para ser sobreexpresados intragénicamente en variedades de portainjertos y así desarrollar plantas potencialmente resistentes a HLB y otras enfermedades, con capacidad de transferir la resistencia a la copa y que, en caso de ser solicitada su evaluación, los requisitos dentro del marco regulatorio nacional e internacional de los organismos genéticamente modificados (OGMs) se reduzcan significativamente.

BV33. Nuevas tecnologías de producción vegetal frente al cambio climático: Mejoras de rendimiento en condiciones de sequía y alto CO2

Oitaven, P.A. (1); Müller, G.L. (1); Lara, M.V. (1); Estavillo, G. (2); Drincovich, M.F. (1)*.

(1) Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos, CONICET - Universidad Nacional de Rosario, Argentina. (2) CSIRO, Canberra, Australia.

*drincovich@cefobi-conicet.gov.ar

La disminución de la disponibilidad de agua tiene efectos negativos en la producción agrícola. Cuando el contenido de agua del suelo disminuye por debajo de cierto nivel, las plantas responden cerrando sus estomas, disminuyendo el

crecimiento y, por ende, el rendimiento. Frente a altas concentraciones de CO₂, las plantas inicialmente presentan una mayor tasa fotosintética, que luego disminuye debido a una retroalimentación negativa por la acumulación de azúcares. Por otro lado, al igual que como sucede en condiciones de sequía, altas concentraciones de CO₂ producen el cierre de los estomas, afectando tanto la fijación del carbono como la dinámica de la transpiración. La expresión de la enzima málica no fotosintética de maíz (ZmnpNADP-ME) bajo el promotor del canal de potasio 1 (KAT1) de *Arabidopsis thaliana* en *Nicotiana tabacum* (tabaco) resultó en líneas transgénicas con claras diferencias fenotípicas en comparación con las líneas salvajes, tales como menor tamaño de poro estomático, menores niveles de transpiración y consumo de agua, mayor producción de biomasa en relación con el agua utilizada y floración temprana.

En este trabajo nos propusimos estudiar el efecto de la sequía y una alta concentración de CO₂ en las líneas transgénicas. Las líneas transgénicas y wild-type (WT) fueron sometidas a 30 o 45 días sin riego. Luego de este tratamiento, las distintas líneas fueron regadas a 90% capacidad de campo (recuperación) hasta producción de semillas. El daño por sequía (30 días sin riego) fue significativamente mayor en las líneas WT que en las tres líneas transgénicas estudiadas. La producción de semillas fue mayor en las líneas transgénicas con respecto a las WT, tanto en condiciones control sin sequía, como luego de 30 días sin riego seguido de recuperación. Las diferencias entre las líneas transgénicas y WT fue aún mayor luego de 45 días sin riego. Los experimentos de recuperación luego de 45 días sin riego mostraron una recuperación total y producción de semillas en las transgénicas, a diferencia de las WT que no se recuperaron. En el caso del tratamiento con alta concentración de CO₂ (800 ppm), se observó un aumento significativo del peso específico foliar de las líneas transgénicas con respecto a las WT, tanto en condiciones de alto CO₂ (800 ppm) como CO₂ normal (400 ppm). Las líneas transgénicas también presentaron mayor biomasa seca de la parte aérea luego de este tratamiento. Estos resultados muestran que la expresión célula-específica de la ZmnpNADP-ME provoca importantes mejoras en la resistencia a sequía y a altas concentraciones de CO₂, perfilándose como una estrategia eficaz frente a estas condiciones ambientales.

BV34. Multiplicación *in vitro* de *Aloysia gratissima* (Gill. et Hook) Troncoso (cedrón del monte, usillo), especie silvestre aromática de interés comercial, como alternativa para su conservación y producción

Montechiarini, N. (1); Gosparini, C. (1); Mancini, C. (2); Griva, W. (4); Bueno, M. (3)*

Cátedras de (1) Fisiología Vegetal, (2) Administración Rural, (3) Biología. Facultad de Ciencias Agrarias, UNR. (4) Asesor Privado. IICAR; CIUNR, UNR. CC 14 (S2125ZAA) Zavalla. *miriansbueno@gmail.com

Las plantas aromáticas y medicinales constituyen una alternativa productiva para pequeñas y medianas superficies rurales y para parcelas lindantes a los centros urbanos, donde pueden desarrollarse emprendimientos productivos extensivos o semi-intensivos agroecológicos, con el consecuente agregado de valor para estas zonas periurbanas. En Argentina, la producción de estas especies tiene gran complejidad y mucha potencialidad. En función de las características agroecológicas requeridas por cada especie, las mismas se distribuyen en toda la geografía del país, por lo que son relevantes para el desarrollo de diversas economías regionales, sin embargo su recolección se realiza en forma manual directamente en las zonas de crecimiento natural, obteniendo disparidad en la calidad del producto. Asimismo, la multiplicación de estas especies en laboratorio por esquejes o germinación de semillas en placa húmeda, resultó de escaso rendimiento y altos niveles de contaminación. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un protocolo de regeneración *in vitro* de *A. gratissima* para obtener plantines uniformes, vigorosos, de sanidad controlada, que puedan cultivarse en zonas determinadas y mejore tanto la recolección como la calidad del material obtenido. Como explantos se utilizaron semillas, las que se desinfectaron sumergiéndolas 1 min en etanol 70 % y 5 minutos en NaClO al 3 % con el agregado de Tween 20. La siembra se efectuó bajo cámara de flujo laminar. Cincuenta semillas se distribuyeron en 24 tubos con medio agar-agua 8 g.L⁻¹. A los 30 días después de la siembra (DDS) las plántulas obtenidas fueron repicadas a medio Murashige & Skoog diluido al cuarto suplementado con 1 mg.L⁻¹ de ANA e igual concentración de BAP. Los cultivos se incubaron en cámara de crecimiento

a 25 °C, con un fotoperiodo de 16 h, a una densidad de flujo de fotones de 600 $\mu\text{E} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. A los 70 DDS, las plántulas se trasplantaron a una mezcla de tierra húmifera y perlita (3:1) en contenedores de 150 cm^3 y se mantuvieron en cámara de crecimiento hasta el trasplante a macetas de 3 L en igual sustrato bajo condiciones ambientales naturales, a los 90 DDS. Finalmente, transcurridos 180 DDS las plantas fueron llevadas a campo en la FCA y en la provincia de San Luis, para evaluar posteriormente su comportamiento en ambas zonas. Se evaluó el porcentaje de contaminación (%C), el porcentaje de germinación fisiológica (%GF), el tiempo medio de germinación (TMG), el n° de plantas producidas *in vitro* y el n° de plantas en tierra. El método de desinfección de las semillas fue eficiente (6 %C). El %GF fue 63,8 (se detectaron dos plántulas anormales) y TMG fue de 33,6 días. Se obtuvieron 29 plantas *in vitro*, las cuales se trasplantaron y prosperaron en tierra. El protocolo *in vitro* desarrollado permitió obtener ejemplares uniformes, vigorosos y abre una ventana de interés para la producción de *A. gratissima* en la zona periurbana de influencia de la FCA de la UNR, recuperando su valor productivo.

BV35. Comparación de diferentes medidas de parentesco basadas en la noción de identidad por descendencia e identidad por estado en una población de selección de *Eucalyptus dunnii*

Jurcic, E.J. (1,2)*; Villalba, P.V. (2,3); Pathauer, P.S. (1); Palazzini, D.A. (1); Oberschelp, G.P.J (4); Harrand, L. (4), García, M.N. (2,3); Aguirre, N.C. (2,3); Acuña, V.V. (3); Martínez, M.C. (3); Rivas, J.G. (2,3); Cisneros, E.F. (5); López, J.A. (6); Marcucci Poltri, S.N. (3); Munilla, S. (7,2); Cappa, E.P. (1,2).

(1) Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Argentina. (2) CONICET, Argentina. (3) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina. (4) Estación Experimental Agropecuaria Concordia, INTA, Argentina. (5) Facultad de Ciencias Forestales, UNSE, Argentina. (6) Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, INTA, Argentina. (7) Facultad de Agronomía, UBA, Argentina. *jurcic.esteban@inta.gob.ar

La estimación de parámetros genéticos y la predicción de los valores de mejora en un programa de mejoramiento forestal requieren de una medida precisa de la

similitud genética entre los árboles de la población. Las medidas que se utilizan tradicionalmente se basan en la noción de identidad por descendencia (IBD), definida como la probabilidad de que los alelos de un par de individuos desciendan de un ancestro en común y calculada mediante la información del pedigrí. La reciente disponibilidad de paneles de marcadores moleculares de alta densidad permite estimar también la similitud genética sin emplear información de pedigrí. En este caso, las medidas se basan en la noción de identidad por estado (IBS), la cual hace referencia a alelos que son iguales, independientemente de si son heredados de un antepasado reciente o no, y han sido ampliamente empleadas en selección genómica de especies forestales. En cambio, otras medidas de similitud basadas también en marcadores pero que tienen en cuenta el proceso IBD han sido menos estudiadas. El objetivo de este trabajo fue obtener y comparar diferentes medidas de IBD e IBS, computar matrices de relaciones genómicas (G) con ellas, y contrastarlas respecto a cómo recuperan la estructura genética. Para ello, se utilizaron 642 árboles de 75 familias de polinización abierta del programa de mejoramiento de *Eucalyptus dunnii* del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, genotipados con 11.284 SNPs (EUChip60k). Las dos medidas IBD empleadas se basan en un modelo oculto de cadenas de Markov que incorpora información de la posición de los marcadores y el desequilibrio de ligamiento entre ellos (GHA-G) y, adicionalmente, la información de pedigrí (GHA). Las matrices de medidas IBS incluyeron dos métodos basados en correlaciones genéticas pero escaladas de forma distintas (GVR y GY). Uno de ellos (GY), evita reducir la información de los SNP de los alelos con baja frecuencia. Para los individuos relacionados, los métodos IBS mostraron, en promedio, coeficientes más elevados (GVR = 0,291 y GY = 0,290) que los basados en IBD (GHA-G = 0,270 y GHA = 0,261). La misma tendencia se observó para el desvío estándar (DE) de estas medidas: los valores basados en IBS fueron consistentemente mayores (GVR = GY = 0,092) que los basados en IBD (GHA = 0,055 y GHA-G = 0,086). En promedio, el DE de las relaciones basadas en IBS fue un 30,5% mayor que aquellas basadas en IBD. Para individuos no emparentados, los valores de las cuatro medidas fueron, en promedio, cercanos al valor esperado de cero. Sin embargo, sus DE mostraron el mismo patrón que para individuos relacionados. Las medidas IBD mostraron una conexión menor (GHA-G) o nula (GHA) entre árboles de familias de las mismas procedencias y menor agrupación de familias

de la misma procedencia que las matrices IBS. En conclusión, aunque las medidas IBD permitieron mejorar la precisión de las relaciones de parentesco, capturaron menor estructura poblacional que las medidas IBS.

BV36. Expresión del factor de crecimiento fibroblástico básico humano recombinante en plantas transplastómicas de *Nicotiana tabacum*

Müller, C. (1,5); Mirkin, F.G. (1); Pérez Castro, C. (2); Bravo-Almonacid, F.F. (1,3); Wirth, S.A. (4,5); Segretin, M.E. (1,6)*.

(1) INGEBI-CONICET Obligado 2490, CABA (C1428ADN) Argentina. (2) IBioBA-CONICET-MSPS Godoy Cruz 2390, CABA (C1425FQ) Argentina. (3) Departamento de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Bernal, Buenos Aires, Argentina (B1876BXD). (4) IBBEA-CONICET Intendente Güiraldes 2160, CABA (C1428EGA) Argentina. (5) Laboratorio de Agrobiotecnología, DFBMC-FCEN-UBA. (6) Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, FCEyN, Universidad de Buenos Aires. *mariasegretin@gmail.com

Los factores de crecimiento son proteínas de señalización que regulan distintos procesos cruciales durante el desarrollo en animales, tales como la división celular, diferenciación celular y angiogénesis. Estas proteínas son utilizadas para el mantenimiento in vitro de líneas celulares con propiedades de células madre, siendo responsables de mantener el estado pluripotente de las células y modular su plasticidad. Disponer de factores de crecimiento recombinantes representa un alto costo para la investigación. Por esta razón, en el presente trabajo nos propusimos evaluar un sistema alternativo para la producción local de factores de crecimiento recombinantes utilizando biorreactores vegetales. En particular, enfocamos el estudio a la expresión y producción del factor de crecimiento fibroblástico básico humano (hbFGF) en plantas transplastómicas. La transformación del genoma plástido es un sistema de expresión estable que permite alcanzar niveles de expresión potencialmente altos de proteínas heterólogas. Para la generación de plantas transplastómicas, se clonó la secuencia codificante de hbFGF en un vector de transformación plástica y se transformaron plantas de *Nicotiana tabacum* mediante la técnica de biobalística.

La naturaleza transplastómica de los brotes regenerantes se analizó mediante PCR, corroborando la integración del transgén para tres líneas independientes. Las líneas obtenidas fueron sometidas a sucesivas rondas de regeneración para alcanzar la homoplastía y posteriormente rusticadas. Mediante la técnica de western blot, se detectó la presencia de la proteína recombinante hbFGF en plantas rusticadas de las tres líneas. Se realizó la caracterización fenotípica de las líneas transplastómicas, observando un fenotipo de retardo en el crecimiento y clorosis respecto a su contraparte *wild type*. Este fenotipo sugiere que el desempeño fotosintético en estas plantas se encuentra comprometido. Para determinar las causas del fenotipo observado, se realizará un análisis fotosintético en distintos estadios del desarrollo de la planta, junto a la caracterización molecular para determinar potenciales rearrreglos a nivel del genoma plastídico. A su vez, se analizarán distintas estrategias a fin de optimizar la expresión y/o revertir los efectos fenotípicos de la expresión de hbFGF recombinante. En base a estos resultados, se puede concluir que la expresión de hbFGF recombinante es factible en plantas transplastómicas. Además, estas plantas se convierten en un modelo para permitirnos estudiar las bases moleculares y fisiológicas de los efectos pleiotrópicos asociados a la expresión de algunas proteínas recombinantes a partir del genoma plastídico, y explorar alternativas para mejorar el desarrollo de futuras plantas transplastómicas.

BV37. Caracterización molecular mediante genotipificación por secuenciación de las razas VArg1 y VArg2 de *Verticillium dahliae* patogénicas de girasol

Aguilera, P.N. (1)*; Montecchia, J.F. (1); Ben Guerrero, E. (1); Quiroz F. (2); Heinz R. (1); Filippi C. (1); Troglia C. (2); Lía, V. (1); Martínez, M.C. (1); Paniego, N. (1). (1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina. (2) EEA Balcarce, INTA, Argentina. *aguilerapn@gmail.com

El abigarrado de la hoja y la marchitez anticipada (MV) causada por *Verticillium dahliae* es una de las principales enfermedades del cultivo de girasol en la Argentina. El área endémica de la enfermedad se ubica en el sur de la Región Pampeana, afectando a más del 50% de la superficie total destinada al cultivo.

Las pérdidas de rendimiento rondan el 30% en campos altamente infestados, alcanzándose el 73% en germoplasma muy susceptible. La resistencia genética es el recurso más efectivo para el control de la MV. La primera fuente de resistencia descrita, el locus V1, es monogenética y dominante. Este locus fue incorporado masivamente en programas de mejoramiento como fuente de resistencia a MV. Más tarde se encontraron nuevas razas que vulneran V1. Entre estas se describieron dos razas fitopatológicas locales, VArg1 y VArg2. Estas razas, junto con la raza-1 del hemisferio Norte (NA-1), carecen de un efector (Ave1) que define razas moleculares en los patosistemas de tomate y lechuga. Estos resultados señalan la necesidad de detectar nuevas marcas moleculares diferenciales para razas de *V. dahliae*. El objetivo de este trabajo es caracterizar los aislamientos VArg1, VArg2 y NA-1 mediante la técnica de genotipificación por secuenciación, ddRAD-seq. Para ello, se realizaron simulaciones de digestión in silico del genoma de referencia del hongo y se seleccionaron las enzimas de restricción MboI y PstI. Se obtuvieron entre 200 - 250 mil lecturas de tecnología Illumina por muestra que se mapearon contra la referencia mediante el algoritmo BWA-MEM. Se incorporaron al análisis los datos genómicos públicos de cuatro aislamientos provenientes de girasol: 85S (Francia), Vd39 (Alemania), S011 y S023 (China). Se determinaron las posiciones variantes en relación al genoma de referencia utilizando los programas Mummer4 y FreeBayes. Se detectaron ~ 6000 variantes SNP para VArg1 y VArg2, de las cuales más de 100 son únicas para cada aislamiento. Las variantes de los siete aislamientos analizados se integraron a una matriz de SNP de 126 aislamientos internacionales a partir de 1194 SNP en común. Esto permitió reproducir la filogenia propuesta previamente por diversos autores, y ubicar los aislamientos locales en el árbol filogenético. VArg1 y VArg2 se agruparon con el aislamiento 85S como un subgrupo del subclado II-1, mientras que el aislamiento NA-1 se ubicó junto con Vd39 y S011 como subgrupo del clado I. El análisis de las secuencias nucleotídicas reveló que los aislamientos VArg1 y VArg2 comparten con 85S una región genómica de aproximadamente 10Kb asociada a la patogenicidad específica contra girasol, la cual no está presente en NA-1. Los resultados generados fortalecen la caracterización de las razas de *V. dahliae* que afectan girasol, y favorecen el desarrollo de métodos de diagnóstico molecular, estudios epidemiológicos y de vigilancia, así como el diseño de futuras estrategias de mejoramiento genético de girasol para el control de la enfermedad.

BV38. Purificación y caracterización parcial de un nuevo inhibidor de tripsina con actividad antifúngica obtenido a partir de semillas de morrón amarillo

Ozón, B.; Geier, F.; Rossotti, M.; Saman, C.; Claver, S.; Obregón, W.D.; Cotabarren, J.*

Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIPROVE), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

*cotabarren.juliana@biol.unlp.edu.ar

Los inhibidores de proteasas de naturaleza proteica o inhibidores peptídicos de proteasas (IPPs) son polipéptidos que inhiben la acción de proteasas y se encuentran extensamente distribuidos en diferentes tejidos de animales, plantas y microorganismos. Se cree que la función principal de los IPPs de plantas está asociada a los mecanismos de defensa y regulación de proteasas endógenas, pero también pueden funcionar como proteínas de almacenamiento. Numerosos inhibidores de serín proteasas han sido ensayados en su actividad antifúngica debido a su capacidad inhibitoria de tripsina y/o quimiotripsina, dado que son proteasas estrechamente asociadas a procesos fisiológicos clave. En este trabajo se informa el aislamiento, purificación y caracterización del primer inhibidor de tripsina aislado a partir de semillas de morrón amarillo (*Capsicum annuum* L.)¹. Dicho inhibidor (al que denominamos YBPTI) presentó estabilidad térmica luego de ser sometido durante 5 min a 100 °C, con una constante cinética de inhibición (K_i) de $1,7 \times 10^{-6}$ M y una IC₅₀ (concentración de inhibidor que produce 50% de inhibición de tripsina) de 3,9 µg/mL. El peso molecular de YBPTI fue determinado mediante espectrometría de masas MALDI-TOF, evidenciando un valor de 5903 Da, lo cual sumado a la estabilidad térmica observada previamente indicaría que forma parte de los inhibidores tipo Bowman-Birk. Finalmente, se realizó la evaluación de actividad antimicrobiana ensayando la formación de halos de inhibición en presencia de 2 µg de inhibidor para diferentes cepas de microorganismos patógenos. De este modo, fue posible evidenciar la inhibición de crecimiento de *Candida albicans* (con halo de inhibición de 16 mm de diámetro), mientras que para las bacterias ensayadas (*Enterococcus faecalis*, *Salmonella*

typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter amalonaticus*, *Enterobacter cloacae*) no se observó inhibición de crecimiento. Estos resultados son prometedores para profundizar el estudio del efecto antifúngico de YBPTI y su caracterización molecular, permitiendo el descubrimiento de nuevas moléculas de origen natural con potencial para su empleo en la industria farmacéutica. Se propone continuar estudiando la potencial actividad inhibitoria de las otras cepas bacterianas empleando mayor concentración de muestra y, además, profundizar el estudio sobre el mecanismo de inhibición de crecimiento sobre Cándidas.

BV39. Desarrollo de técnicas para el análisis de la fluidez de las membranas de duraznos sometidos a distintos tratamientos poscosecha

Ferreyra, L.S. (1)*; Bustamante, C.A. (1); Müller, G. (1); Bagatolli, L. (2); Fidelio, G. (3); Drincovich, M. F. (1).

(1) Centro de Estudios Fotosintéticos y Bioquímicos, Argentina. (2) Instituto Ferreyra, Argentina. (3) Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba, Argentina. *ferreyra@cefobi-conicet.gov.ar

El fruto del duraznero (*Prunus persica*) se deteriora rápidamente a temperatura ambiente, por lo cual es necesario el uso de bajas temperaturas durante su almacenaje y transporte para prolongar su vida comercial. Sin embargo, esta práctica conlleva a desórdenes fisiológicos denominados “daños por frío”. En estudios previos, se realizó un análisis del lipidoma de variedades sensibles y resistentes a este daño y se compararon distintos tratamientos poscosecha. Se evidenció un aumento de ciertos derivados de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina en las variedades sensibles luego del almacenamiento refrigerado. En función de estos resultados, nos propusimos estudiar cómo los distintos tratamientos poscosecha afectan la fluidez de las membranas en variedades sensibles y resistentes al daño. En la primera etapa de este estudio, se trabajó con la variedad Elegant Lady (resistente al daño por frío) en el estadio de maduración fisiológica para poner a punto la técnica, comenzando con el aislamiento de las membranas. Se probaron dos protocolos distintos, uno de los cuales incluyó un paso adicional de purificación utilizando un sistema bifásico.

Para evaluar la fluidez de las muestras de liposomas obtenidos, se incubó con la sonda 6-dodecanoil-2-dimetilaminonaftaleno (LAURDAN), la cual se intercala entre los ácidos grasos y permite evaluar el entorno mediante espectros de emisión de fluorescencia (400 y 550 nm). Posteriormente, a partir de los espectros se calculó la función de polarización (GP) que permite cuantificar el grado de fluidez de la membrana tomando valores teóricos de 1 para la fase gel y -1 para la fase líquido-cristalina. En función de los espectros obtenidos, se observó que el protocolo que presenta menor dispersión de las mediciones es el que lleva a cabo una extracción con un sistema de polímeros de dos fases. También se verificó que las muestras no emitieran a las longitudes de onda de trabajo. Debido a que estos experimentos demostraron que la técnica resulta factible para ser aplicada en este modelo biológico, se espera repetir estos ensayos con distintas variedades de durazno y tratamientos poscosecha con el fin de determinar si la sensibilidad de la misma permite discriminar variedades sensibles *versus* resistentes en las distintas condiciones. Además, para continuar optimizándola se planea cuantificar la concentración de lípidos para lograr una óptima relación sonda: ácidos grasos. Por otro lado, para complementar estos ensayos se pretende utilizar microscopía confocal de cortes de mesocarpio de durazno de las distintas variedades sometidas a los mismos tratamientos poscosecha. Para llevar este objetivo a cabo, los cortes se incubarán con la sonda LAURDAN y con los valores de GP de la imagen se pretende obtener mapas con el fin de evidenciar la variabilidad de la fluidez de la membrana en distintas regiones del fruto en su entorno natural.

BV40. Efectos de las diferencias en metilación del ADN de inflorescencias en el modo reproductivo de *Eragrostis curvula*

Gallardo, J.A. (1,2); Carballo, J. (1,2); Zappacosta, D.C. (1,2); Marconi, G. (3); Di Marsico, M. (3); Gallo, C.A. (1); Caccamo, M. (4); Albertini, E. (3); Echenique, V.C. (1,2)*.

(1) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET), Bahía Blanca, Argentina. (2) Dpto. Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina. (3) Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, 06121 Perugia, Italy. (4)

NIAB, 93 Lawrence Weaver Road, Cambridge CB3 0LE, UK.
[*echeniq@criba.edu.ar](mailto:echeniq@criba.edu.ar)

Entre las modificaciones epigenéticas se encuentra la metilación del ADN, que se logra por la incorporación de un grupo metilo a citosinas y/o adeninas, lo cual modifica la expresión de los genes. En las plantas la epigenética puede considerarse un reflejo de la historia evolutiva, ya que pueden colonizar, crecer y reproducirse en ambientes muy diversos gracias a su plasticidad fenotípica. La apomixis es una forma de reproducción asexual a través de semillas, mediante la cual se generan progenies genéticamente idénticas a la planta madre. *Eragrostis curvula* (pasto llorón), es una gramínea forrajera que presenta genotipos sexuales y apomícticos (full y facultativos). Se ha demostrado que estos últimos pueden aumentar el porcentaje de sacos embrionarios sexuales ante situaciones de estrés, como cultivo in vitro, estrés hídrico e hibridación intraespecífica, evidenciando la existencia de cierto control epigenético sobre el proceso. El objetivo de este trabajo fue estudiar la asociación entre la metilación diferencial de genes o regiones genómicas y el modo reproductivo, utilizando genotipos con diferentes modos reproductivos. Para ello, plantas tetraploides y reproductivamente contrastantes (“Don Walter” apomíctico facultativo, “Tanganyika” full apomíctico y “OTA-S” sexual), fueron analizadas mediante la técnica de MCS_{Se}Ed (*Methylation content sensitive enzyme ddRAD*), que consiste en realizar una doble digestión del ADN con una enzima insensible a la metilación (MseI) en combinación con una enzima sensible (AclI, PstI, EcoT22, DpnII) para inferir los diferentes contextos metilados (CG, CHG y CHH y 6mA, respectivamente). Luego de la digestión se incorporan secuencias cortas (barcode) y se realiza una amplificación. Las secuencias amplificadas fueron secuenciadas utilizando la plataforma Illumina HiSeq 2500. Se construyeron 36 bibliotecas y se obtuvo una media de 4.662.929 lecturas de 150 pb de longitud por biblioteca. Los niveles más altos de metilación del ADN se encontraron en genotipos apomícticos y, a su vez, en regiones regulatorias. Se identificaron diferencias de metilación entre los genotipos en dos de los principales genes involucrados en la desmetilación (ROS1 y ROS4). También se detectaron varios genes regulados por metilación que anteriormente se encontraban

diferencialmente expresados entre genotipos apomícticos y sexuales, lo que nos permite vincular la metilación del ADN con diferencias en el modo reproductivo.

BV41. Temperaturas elevadas durante el almacenamiento de semillas.

Relación entre el estado redox y las modificaciones del perfil metabólico-hormonal en el desarrollo de la planta

Eggel, M.L. (1)*; Pavoni, M. (2); Pérez-Chaca, M.V. (3); Pena, L.B. (1,2).

(1) Instituto de Química y Fisicoquímica Biológica (IQUIFIB). Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Argentina. (3) Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. San Luis, Argentina. *luz.eggel@gmail.com

La mayoría de las plantas cultivadas utilizan semillas para reproducirse; sin embargo, muchas veces las semillas luego de su maduración y su dispersión no conservan la viabilidad y el vigor, ya sea porque son durmientes o porque las condiciones ambientales o de almacenamiento no son favorables. El estrés disminuye el rendimiento de los cultivos, lo cual hace más evidente la necesidad de realizar estudios que permitan identificar mecanismos de tolerancia. La interacción genoma-ambiente, es un punto esencial para la elucidación de la naturaleza de la variación fenotípica que lleva a una respuesta exitosa de las plantas al cambio ambiental. Los cultivos de soja y maíz en nuestro país y en particular en la provincia de San Luis y Buenos Aires, han tenido un crecimiento muy grande. El análisis metabólico puede detectar un momento particular en el metabolismo.

Hipótesis: Temperaturas extremas en períodos cortos de tiempo durante el almacenamiento de las semillas conducen a un desbalance redox y en el metabolismo durante la germinación y el crecimiento de las plántulas.

Objetivo General: Estudiar a nivel fisiológico, bioquímico, molecular y celular el papel de las especies activas del oxígeno y del nitrógeno en dos plantas de interés agronómico de nuestro país, soja y maíz. Identificar alteraciones en los posibles

mecanismos involucrados, relacionados con las fitohormonas y el metabolismo causados por condiciones de temperatura de almacenamiento variables.

Dentro de los Objetivos Específicos se desea determinar parámetros fisiológicos, morfológicos, viabilidad y vigor, y el contenido endógeno de macro y micronutrientes en las semillas y en tejidos en los primeros estadios de las plantas. Se prevé analizar también el perfil metabolómico, hormonal y oxidativo, así como las rutas implicadas en la síntesis y degradación de estos compuestos.

Este proyecto contribuiría al estudio de las vías metabólicas comprometidas en el estrés generado por alteraciones extremas de la temperatura a corto plazo que se producen durante el almacenamiento de semillas de maíz o soja luego de la cosecha. Se busca relacionar el metabolismo, las fitohormonas, los sistemas antioxidantes y el daño oxidativo, por medio de evidencias genéticas, bioquímicas y fisiológicas. Los resultados obtenidos serán publicados y contribuirán a ampliar el conocimiento, diseñar y establecer estrategias para el mejoramiento en el almacenamiento de semillas tanto en la industria alimenticia como a nivel agronómico.

BV42. El rol de TGS1 en el procesamiento de ARNs durante el desarrollo reproductivo de *Paspalum notatum*

Colono, C.M.*; Podio, M.; Pessino, S.C.

Instituto de Investigaciones en Ciencias Agrarias de Rosario (IICAR), CONICET, FCA UNR, Rosario, Argentina. *colono@iicar-conicet.gob.ar

Paspalum notatum, una especie forrajera nativa de interés agronómico, es un sistema modelo para el estudio de la apomixis apospórica, que está presente naturalmente en sus individuos tetraploides. Estudios previos demostraron que el gen TRIMETILGUANOSINA SINTASA (TGS1) está regulado negativamente en óvulos de *Paspalum* tetraploide apomíctico con respecto al control tetraploide sexual. Más aún, el silenciamiento de TGS1 en plantas tetraploides sexuales induce la formación de tricomas foliares y de sacos embrionarios supernumerarios similares a los apospóricos. Se sabe que en levaduras y animales TGS1 trimetila las caperuzas de varios tipos de snARNs que forman parte de la maquinaria de clivado y empalme, por lo que influye en el procesamiento de ARNm específicos.

Además, interviene en la maduración de varios pri-miARNs, etapa indispensable para su exportación al citoplasma y posterior procesamiento. El objetivo de nuestro trabajo fue determinar si TGS1 influye en el procesamiento de ARNs en óvulos de *Paspalum notatum* e identificar blancos de acción del gen. Teniendo en cuenta que las plantas sexuales de *P. notatum* expresan concentraciones significativamente más altas de TGS1 que las apospóricas, seleccionamos 316 transcriptos diferencialmente representados en espiguillas de plantas apomícticas y sexuales, con valores FDR (False Discovery Rate) $< 6,74E-10$, y determinamos cuáles de ellos correspondían a posibles variantes de clivado y empalme. Por análisis de qPCR confirmamos que una variante no procesada de uno de los transcriptos seleccionados (CHLOROPHYLL A-B BINDING PROTEIN 1B-21, CAB1) estaba menos representada en espiguillas de plantas apomícticas respecto a las sexuales y de líneas sexuales antisentido *tgsl* respecto a los controles sexuales silvestres. Por otra parte, identificamos siete miARNs con mayor representación en bibliotecas florales de ARN pequeños (sARN) sexuales respecto a apomícticas. Haciendo experimentos de qPCR determinamos que uno de ellos (miARN2275) está menos representado en las líneas en antisentido *tgsl* en el estadio de premeiosis-meiosis, cuando se inicia el fenómeno de aposporía. Nuestros resultados indican que TGS1 influye en el clivado y empalme de al menos un ARNm (CAB1) y en el procesamiento de un miARN (miARN2275) en *Paspalum notatum*. CAB1, un componente del complejo fotosintético de captación de luz LHCII, fue recientemente incluido en el grupo de RBP (*RNA binding proteins*), que juegan un rol crucial en la regulación de la función y el destino de los ARNs. Por otra parte, el blanco predicho de miR2275 en *Paspalum* es AGO1, una de las moléculas involucradas en el control de la identidad celular en el óvulo, lo que puede relacionarse con el fenotipo reproductivo alterado (similar a la aposporía) que presentan las plantas antisentido *tgsl*.

BV43. Regulación del crecimiento del brote y la translocación de azúcares en tubérculos de plantas de papa que sobreexpresan la bomba de protones PHA1 de *Solanum tuberosum*.

Grobly, I.M. (1)*; Muñiz García, M.N. (1); Cortelezzi, J.I. (1); Capiati, D.A. (1,2)

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor Torres”, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). (2) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. *iaragrobly@yahoo.com.ar

Luego de concluido el período de dormición de los tubérculos de papa, comienza el desarrollo de los brotes que darán comienzo al nuevo ciclo de crecimiento de la planta. Durante este proceso se produce un reacomodamiento del metabolismo de azúcares. De un metabolismo centrado en la síntesis de compuesto de reserva en el tubérculo que originalmente funcionaba como sumidero, se pasa a un metabolismo de degradación, donde ahora el tubérculo funciona como fuente de azúcares que sostendrán el desarrollo de los brotes. En una primera etapa, son las hexosas libres presentes en el tubérculo las que son utilizadas para sintetizar sacarosa que se transporta al brote para iniciar el proceso de ruptura de la dormición. Una vez iniciado, la fuerte demanda de azúcares del brote en crecimiento provoca una disminución en los niveles de azúcares solubles y sacarosa en el tubérculo que dispara la degradación de almidón. Es ahora la degradación del almidón del tubérculo convertido en fuente de azúcares, quien provee la energía al brote en desarrollo. Esta sacarosa tras ser transportada e hidrolizada será utilizada para sostener el crecimiento del brote.

Las bombas de protones de membrana plasmática (PM H⁺-ATPasa) son proteínas de membrana que bombean protones fuera de la célula, generando el gradiente electroquímico que dirige el transporte de iones y metabolitos en las células a través de canales y transportadores. Este proceso es necesario para la mayoría de las respuestas fisiológicas como el crecimiento celular, carga/descarga del floema, etc. En papa, recientemente, se ha descrito un rol central de la PHA1 (PM H⁺-ATPasa 1 de *Solanum tuberosum*) en la regulación del crecimiento de la planta y el desarrollo del tubérculo. Promueve la elongación del estolón y el crecimiento del tubérculo, regulando el metabolismo de sacarosa-almidón y su transporte.

En este trabajo se estudió el rol de *StPHA1* en la brotación de los tubérculos de papa, utilizando plantas de papa (*Solanum tuberosum* Spunta) que sobreexpresan de manera constitutiva y ubicua este gen (plantas denominadas PHA1-OE). Se

estudió el crecimiento del brote y la variación de los niveles de glucosa, sacarosa y almidón durante el proceso.

Los brotes de las plantas PHA1-OE resultaron más largos que los de las plantas silvestres. Los niveles de azúcares tanto en brotes como en tubérculos brotados se encontraron alterados. En tubérculos brotados los niveles de azúcares solubles y almidón resultaron más bajos en las plantas PHA1-OE. Se encontraron bajos niveles de azúcares solubles y altos niveles de almidón en los brotes de tubérculos de plantas transgénicas respecto de las silvestres. Estos resultados indican que la actividad de la PHA1 estaría energizando el transporte apoplástico de sacarosa desde el tubérculo hacia el brote durante el crecimiento del mismo, favoreciendo una acumulación de azúcares en el tejido de alto crecimiento.

BV44. La subunidad catalítica de la fosfatasa de proteínas 2A (StPP2Ac2b) está involucrada en el control de la brotación de los tubérculos en *Solanum tuberosum* Spunta

Muñiz García, M.N. (1)*; Grobly, I.M. (1); Cortelezzi, J.I. (1); Capiati, D.A. (1,2).

(1) Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular “Dr. Héctor Torres”, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) (2) Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires. *noemunizgarcia@gmail.com

Una vez cosechados, los tubérculos de papa atraviesan un periodo en el cual las yemas del mismo no son capaces de crecer que se denomina dormición. La duración de este periodo depende de factores genéticos y ambientales y se encuentra principalmente regulado por el balance de las concentraciones relativas de hormonas promotoras e inhibidoras del crecimiento. La concentración de ácido abscísico (ABA) se eleva en la post-cosecha, induciendo y manteniendo las yemas en dormición. Sin embargo, sus niveles disminuyen durante el almacenamiento de los tubérculos, mientras que aumentan los niveles de giberelinas (GA) y citoquininas (CK). Esto favorece la reactivación de los meristemas dormidos, lo que determina el crecimiento de nuevos brotes y el reinicio del ciclo de crecimiento de la planta. La ruptura de la dormición implica un reacomodamiento del metabolismo de azúcares, que pasa de un metabolismo

centrado en la síntesis de compuesto de reserva a su degradación. Inicialmente, las hexosas libres del tubérculo son utilizadas para sintetizar sacarosa que se transporta al brote para iniciar el proceso de ruptura de la dormición. Una vez iniciado, la fuerte demanda de energía del brote en crecimiento provoca una disminución en los niveles de azúcares solubles y sacarosa del tubérculo que dispara la degradación de almidón. Este metabolismo degradativo será el sostén para la provisión de energía al brote en desarrollo, donde la sacarosa tras ser transportada e hidrolizada será utilizada para sostener el crecimiento.

Las fosfatasa de proteínas de serina/treonina de tipo 2A (PP2A) están implicadas en numerosos procesos fisiológicos en plantas, como la señalización en estrés y la respuesta a hormonas. Están conformadas por una subunidad catalítica (C), una estructural (A) y una regulatoria (B). Se desarrollaron plantas de papa que sobreexpresan constitutivamente la subunidad catalítica c2b (StPP2Ac2b) bajo el promotor 35S (StPP2Ac2b-OE).

En este trabajo se estudió el rol de StPP2Ac2b en la dormición y brotación de los tubérculos de papa. Se estudió la progresión de la brotación, la variación de los niveles de glucosa, sacarosa y almidón durante el proceso, la actividad invertasa y amilasa y los niveles de expresión de genes clave en el balance de hormonas ABA/GA. Además se estudió la regulación transcripcional de las isoformas de la subunidad catalítica de la subfamilia I en este proceso.

La actividad de las PP2A se encuentra altamente regulada durante el proceso de ruptura de la brotación en tubérculos de papa. La sobreexpresión de StPP2Ac2b, retrasa el inicio de la brotación de los tubérculos y modifica el patrón de crecimiento del brote, por un mecanismo que involucra cambios en la regulación del metabolismo sacarosa/almidón y el balance de GA/ABA. Estos resultados sitúan a las PP2A en la señalización y regulación del período de dormición del tubérculo y crecimiento del brote, un proceso fisiológico en el que aún quedan muchos efectores por descubrir.

BV45. Análisis comparativo de la tolerancia a arsénico de bacterias rizosféricas y su efecto sobre propiedades promotoras del crecimiento vegetal

Pramparo, R.P.*; Vezza M.E.; Wevar Oller, A.L.; Talano, M.A.; Agostini, E.

Dpto. Biología Molecular, FCEFQyN, UNRC. INBIAS-CONICET. Río Cuarto, Córdoba, Argentina. *rpramparo@exa.unrc.edu.ar

La inoculación de plantas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal que además posean capacidades biorremediadoras, es una estrategia biotecnológica que potencia la complementación metabólica, pudiendo contribuir a la mejora de la productividad agrícola y a subsanar problemas ambientales. El objetivo de este trabajo fue investigar el efecto de arsenito (AsIII) y arseniato (AsV) sobre el crecimiento y las propiedades promotoras del crecimiento vegetal (PGP) de un grupo de rizobacterias (*Bradyrhizobium japonicum* E109, *Bacillus toyonensis*, *Bacillus pumilus* SF5 y *Pseudomonas* AW4), que podrían ser utilizadas como inoculantes en zonas afectadas por As. Se evaluó el crecimiento y viabilidad en medio TY sólido y líquido sin As (control) y suplementado con concentraciones crecientes de AsIII (10, 25 100, 250, 500 y 1000 μ M) o AsV (10, 25, 100, 500, 1000 y 2000 μ M). El efecto del As sobre propiedades PGP se determinó utilizando medio NBRI-BPB para solubilización de fosfato, agar Chrome azurol S para producción de sideróforos, medio libre de nitrógeno Nfb-azul de Bromotimol para la detección de nitrógeno fijado *in vitro* y medio mínimo M9 suplementado con leche descremada para actividad proteolítica. La producción de ácido indol acético (AIA) se cuantificó según la técnica de Salkowski. En todos los casos, se utilizaron concentraciones seleccionadas de AsIII (10, 25 y 250 μ M) y AsV (10, 25 y 500 μ M). El crecimiento de *Pseudomonas* AW4 y *B. toyonensis* no se modificó significativamente por ninguna de las concentraciones estudiadas, tanto de AsIII como de AsV. *B. pumilus* SF5 redujo considerablemente su crecimiento bajo concentraciones extremas de AsIII (250 μ M) y AsV (500 μ M), siendo leves los efectos para el resto de las condiciones. Por otro lado, no se observaron cambios en el crecimiento de *B. japonicum* E109 en presencia de AsV, mientras que la presencia de AsIII tuvo efectos a partir de una concentración de 10 μ M, intensificándose hasta una inhibición casi completa en AsIII 250 μ M. En relación a las propiedades PGP, *B. pumilus* SF5 y *Pseudomonas* sp. AW4 fueron capaces de solubilizar fosfato en todas las concentraciones de AsIII y AsV testadas. La presencia de AsIII inhibió la fijación biológica del nitrógeno *in vitro* en *B. japonicum* E109, sin embargo, el resto de las cepas mantuvieron esta propiedad

bajo todos los tratamientos evaluados. Tanto *B. toyonensis* como *B. pumilus* SF5 mostraron actividad proteolítica en ausencia y presencia de As. Con respecto a la producción de AIA, *B. toyonensis* y *B. pumilus* SF5 mostraron un incremento en presencia de AsIII y AsV, mientras que no se registraron cambios en el caso de *B. japonicum* E109 y *Pseudomonas* AW4. La caracterización efectuada permitiría seleccionar a *Pseudomonas* AW4, *B. toyonensis* y *B. pumilus* SF5 como potenciales candidatos para la co-inoculación con *B. japonicum* E109, complementando sus capacidades PGP en suelos conteniendo As.

BV46. Mejoramiento de la calidad nutricional del tubérculo de papa: aumento del contenido de hierro

Cortelezzi, J.I. (1)*; Muñiz García, M.N. (1); Grobly, I.M. (1); Capiati, D.A.(1,2).
(1) Laboratorio de Ingeniería Genética en plantas, INGEBI-CONICET. (2) Departamento de Química Biológica, FCEN-UBA. *jicortelezzi@gmail.com

El hierro (Fe) es necesario para la salud humana y su deficiencia causa anemia, una enfermedad ampliamente distribuida (con una prevalencia de 48.1% en países en vías de desarrollo) que provoca serios problemas de salud. En Argentina los resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS) reflejan que la anemia es una de las alteraciones nutricionales más prevalentes en la infancia que ocurre principalmente en niños cuyos hogares presentan dificultades económicas (16% de los menores de 5 años, 35% de los niños de 6-24 meses de edad y 20% de mujeres en edad fértil, según el Ministerio de Salud 2017). Una solución (al menos parcial) a este problema es el desarrollo de alimentos biofortificados de bajo costo, a los que los puedan acceder personas de bajos recursos. En nuestro laboratorio trabajamos con plantas de papa de la principal variedad de consumo en fresco en Argentina, Spunta, diseñando estrategias para el mejoramiento mediante ingeniería genética.

Como objetivo de este trabajo se planteó mejorar la calidad nutricional de los tubérculos aumentando el contenido de hierro (Fe). Para ello se utilizaron dos genes involucrados en el almacenamiento del Fe en plantas. El gen de la ferritina de poroto (*Phaseolus vulgaris*) Pvferritin que codifica para una proteína

almacenadora de Fe. Por otro lado, el gen de la nicotianamina sintasa (NAS) de cebada (*Hordeum vulgare*) codifica para la enzima de la biosíntesis de nicotianamina (NA); la NA es un quelante de cationes como el Fe y zinc (Zn), que cumple una función clave en el transporte interno de ambos micronutrientes en la planta. Se colocó el gen Pvferritin bajo la regulación del promotor de Patatina (la principal proteína del tubérculo) para obtener una alta expresión de Pvferritin tejido específica (tubérculos) y el HvNAS1 bajo la regulación de un promotor fuerte ubicuo para una alta expresión en toda la planta. Se construyeron los vectores pPat::Fer, p35S::NAS y pPat::Fer-p35S::NAS para la expresión de Pvferritin y HvNAS en el vector binario pPZP-NPTII. Con este vector se están transformando explantos de plantas de papa Spunta para obtener plantas Fer, NAS y Fer-NAS. Se espera desarrollar cultivos de papa transgenicos que combine las ventajas de la expresión de ambos genes para la biofortificación de los tubérculos con Fe.

BV47. Desarrollo de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) y maíz (*Zea mays* L.) con expresión constitutiva de variantes de Cas9

Auteri, M. (1,2)*; Faccio, P (1); Beznec, A. (1); Bossio, E. (1).

(1) Instituto de Genética “Ewald A. Favret”, CICVyA, INTA (2) CONICET.

*auteri.micol@inta.gob.ar

Los cultivos de trigo y maíz son objeto tanto del mejoramiento convencional como biotecnológico. Ambos forman parte de la dieta diaria humana y animal.

Contar con herramientas de biotecnología moderna ágiles, podrían contribuir a resolver actuales y futuras demandas del sector productivo.

En edición génica, una de las limitantes que atentan contra la eficiencia de regeneración de plantas editadas es el tamaño de los vectores de expresión.

En este desarrollo se propone obtener genotipos de ambos cultivos que expresen de forma constitutiva dos variantes de la endonucleasa Cas9 (TaCas9 o TaCas9_dead), principal enzima del sistema de edición génica basado en CRISPR. Estas plantas serán utilizadas como base para editar de forma rápida tanto secuencias de interés agropecuario, así como para validar funcionalidad de genes, a partir de la retransformación con pequeños vectores que solo expresan

las guías necesarias para complementar la funcionalidad de las nucleasas heterólogas, o a partir de cruzamientos dirigidos con nuevas plantas transgénicas que expresen las mencionadas guías. Luego de verificar molecularmente las modificaciones realizadas, se utilizará mejoramiento acelerado (*speed breeding*) para eliminar rápidamente la maquinaria incorporada para editar.

Mediante el método biolístico (*Particle Inflow Gun*) se generaron plantas del genotipo Bw56 de trigo y Hi II de maíz que contienen las unidades transcripcionales que expresan de forma independiente, dos variantes de la enzima Cas9.

Actualmente se están caracterizando molecularmente las diferentes plantas de trigo y de maíz obtenidas, para determinar los niveles de expresión de los genes que codifican para las endonucleasas.

BV48. Secuenciación de Nueva Generación como herramienta para la caracterización de eventos transgénicos de trigo

Garibotto, M.D.B. (1,3)*; Vera, P. (2); Muñoz, M. (2); Beznec, A. (1); Carignano, H. (1), Puebla, A. (2); Bossio, E. (1).

(1) Instituto de Genética “Ewald A. Favret”, CICVyA, INTA, Argentina. (2) Instituto de Biotecnología – IABIMO, CICVyA, INTA, Argentina. (3) CONICET, Argentina. *

garibotto.belen@inta.gob.ar

El objetivo del presente trabajo es obtener información detallada a nivel molecular y genómico para el screening y selección de eventos transgénicos de poblaciones de trigo pan. De este análisis se obtendrá información sobre las zonas flanqueantes a las inserciones, la cual permitirá el diseño de oligonucleótidos específicos. Además, se determinará el número de inserciones y su localización dentro del genoma.

Actualmente se utiliza la técnica Southern Blot o el caminado cromosómico para la caracterización molecular de eventos transgénicos. Sin embargo, la complejidad y los altos costos de dichas técnicas representan una dificultad a la hora de analizar grandes poblaciones de especies con genomas poliploides y complejos, como el del trigo pan.

En este trabajo se puso a punto una novedosa técnica para la identificación de regiones flanqueantes a las inserciones en eventos transgénicos de trigo pan, utilizando el enriquecimiento de una secuencia blanco, combinada con secuenciación masiva.

Partiendo del vector de transformación utilizado para obtener el evento transgénico, se diseñaron sondas biotiniladas. Estas sondas se emplearon para la captura y enriquecimiento de las regiones de interés de una biblioteca de ADN genómico, previamente construida a partir del ADNg del trigo transformado. Luego de la captura, la biblioteca enriquecida fue secuenciada por secuenciación masiva. El análisis bioinformático de las secuencias obtenidas, altamente enriquecidas en la secuencia de interés, permitió encontrar diferentes combinaciones de inserciones en los cromosomas analizados: pares discordantes, secuencias de unión y la combinación de ambas. A partir de esta información, se identificaron 36 sitios calientes distribuidos en 19 de los 21 cromosomas de trigo, siendo cuatro de estos los más promisorios. Estos sitios calientes representan loci potenciales en los que pudo haberse insertado el transgén. Para cada uno de los locus promisorios, distribuidos en tres cromosomas, se diseñó una serie de oligonucleótidos específicos utilizando una base de datos de referencia (GrainGenes, GSP), mediante los cuales se verificará la presencia del transgén.

BV49. Inducción in vitro de callos en *Prunus persica* (L. Batsch) y análisis preliminar de su control genético

Soria, F.E. (1); Aballay, M.M. (1); Valentini, G.H. (2); Sánchez, G. (1)*.

(1) Lab. de Biotecnología, (2) EEA San Pedro, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2930 San Pedro, Argentina. *sanchez.gerardo@inta.gob.ar

El mejoramiento del duraznero por cruce y selección se ve limitado por el largo período juvenil y la necesidad de cultivar las plantas a campo. La biotecnología vegetal es una alternativa para superar estas limitaciones y aumentar la eficiencia de los programas de mejoramiento. Sin embargo, el carácter recalcitrante del duraznero ha condicionado la aplicación de técnicas de cultivo in vitro, siendo la obtención de callos un paso intermedio importante para muchos de los propósitos de mejora biotecnológica. El objetivo principal de este trabajo fue inducir in vitro la

formación de callos a partir de segmentos nodales en una amplia colección de germoplasma de duraznero. Asimismo, se estudió el control genético de la inducción de callos mediante un estudio de asociación de genoma completo (GWAS). El material vegetal de 83 accesiones (genotipos) de la EEA San Pedro fue recolectado desde octubre a diciembre de 2020. La desinfección se realizó siguiendo procedimientos estándar y los explantos se establecieron in vitro en medio WPM a 24 ± 1 °C y en oscuridad por una semana. Aquellos explantos que no presentaron contaminación se transfirieron a medio WPM suplementado con ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y Kinetina (medio PIM) o 2,4-D y 6-bencilaminopurina (BAP; medio SIM), bajo las mismas condiciones de cultivo. Todos los medios contenían sacarosa al 2 % (p/v), pH= 5,7 y 0,7 % (p/v) de agar. Al cabo de cinco semanas de establecidos los explantos, se registró el número de explantos por genotipo que desarrollaron callos en los medios PIM y SIM. Considerando el % de formación de callos como una característica fenotípica, se realizó el estudio de asociación utilizando un set de 10.827 marcadores moleculares (SNP, InDels y SSR), obtenidos previamente por nuestro grupo mediante ddRAD-seq. Del total de genotipos establecidos in vitro, 51 desarrollaron callos: 28 en ambos medios, 15 solo en PIM y 8 solo en SIM. En su mayoría, los callos obtenidos fueron del tipo friable y de color blanco-amarillo. El análisis de asociación permitió identificar una probable asociación entre el % de formación de callos en SIM y un QTL en el cromosoma 4 (LOD=3,88), explicando un 40% de la varianza fenotípica. En este trabajo fue posible inducir callos a partir de tejido somático de un gran número de genotipos, a diferencia de la mayoría de los protocolos desarrollados para duraznero que utilizan tejido embrional como explanto inicial. Además, si bien el estudio de asociación mostró que existiría un control genético para la formación de callos en SIM, es necesario repetir el análisis otras campañas y con un mayor número de genotipos a fin de confirmarlo.

BV50. La co-inoculación como herramienta biotecnológica para reducir los efectos tóxicos y la acumulación de arsénico en plantas de soja

Veza, M.E. (1)*; Pramparo, R.P. (1); Alemano, S. (2); Wevar Oller, A.L. (1); Agostini, E. (1); Talano, M.A. (1)

(1) Dpto. de Biología Molecular, FCEFQyN, UNRC. INBIAS-CONICET. Río Cuarto, Argentina. (2) Dpto. de Ciencias Naturales, FCEFQyN, UNRC. INIAB-CONICET. Río Cuarto, Argentina. *mvezza@exa.unrc.edu.ar

El aumento de la demanda de granos de soja (*Glycine max*) y productos derivados impulsa el desarrollo de estrategias biotecnológicas para aumentar el rendimiento del cultivo. Entre ellas, la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal ha logrado gran aceptación. El desarrollo de inoculantes debe contemplar la amplia variedad de condiciones ambientales. En este sentido, gran parte del área productiva de Argentina posee suelos y aguas subterráneas con altos niveles de arsénico (As), predominando las formas arseniato (AsV) y arsenito (AsIII). En trabajos previos, se demostró que el As ingresa a las plantas de soja, afectando significativamente su crecimiento y su simbiosis con *Bradyrhizobium japonicum* E109 (E109). Por ello, nuestro objetivo fue evaluar alternativas de co-inoculación que contribuyan a mejorar el desarrollo del cultivo de soja en presencia de As. Se compararon tres estrategias: inoculación simple con E109 y dos alternativas de co-inoculación: con *Azospirillum brasilense* Cd (E109+Cd) y con *Bacillus pumilus* SF5 (E109+SF5) (aislamiento propio), aplicadas sobre semilla. Las plantas fueron crecidas en cámara de cultivo, irrigadas con solución Hoagland 1/4 sin As (control) y con 25 µM de AsV y de AsIII, y a los 35 d de crecimiento se evaluaron diferentes parámetros. En las plantas inoculadas con E109+Cd se observó mayor contenido de clorofila b, mientras que en aquellas inoculadas con E109+SF5 también aumentaron los niveles de clorofila a y carotenoides respecto a la inoculación simple bajo tratamiento con As. Además, en las raíces se detectó aumento de poder reductor (DPPH) e incremento de la actividad superóxido dismutasa (SOD) y ascorbato peroxidasa (APx), principalmente con E109+SF5 bajo tratamiento con AsV. En la parte aérea también se observaron cambios diversos en el sistema antioxidante, incluyendo aumento de poder reductor, APx y de la actividad de peroxidasa (Px) principalmente inducidos por E109+Cd. Por otra parte, E109+Cd disminuyó significativamente la translocación de As a la parte aérea, reduciendo su acumulación en hojas, mientras que E109+SF5 redujo el contenido del metaloide en raíces de plantas expuestas a AsV y AsIII, respectivamente. La co-

inoculación con E109+SF5 incrementó levemente el peso promedio de los nódulos bajo tratamiento con AsV, aunque no se encontraron efectos relevantes sobre los parámetros de crecimiento y de nodulación en el resto de las condiciones. No obstante, las co-inoculaciones podrían impactar en estadios fenológicos posteriores y/o en el rendimiento y sanidad de los granos. Nuestros resultados permiten proponer a las co-inoculaciones con E109+Cd y E109+SF5 como estrategias superadoras respecto a la inoculación simple con E109 para optimizar el desarrollo de plantas de soja y prevenir la posible contaminación del grano en ambientes con altos niveles de As.

BV51. El priming de semillas de trigo con espermina evitó el desequilibrio redox inducido por cadmio en la raíz

Gomez Mansur, N.M. (1,2)*; Recalde, L. (1); De Diego, N. (3); Spíchal, L. (3); Cavar, S. (3); Rozehnalová, M. (3); Pěňčík, A. (3); Novák, O. (3); Gallego, S.M. (1,2); Benavides, M.P. (1,2).

(1) Universidad de Buenos Aires – FFyB, Argentina. (2) IQUIFIB, CONICET, Argentina. (3) Centre of the región Hana, Faculty of Science, Palacky University, Rep. Checa *nabimgm@gmail.com

La exposición a ciertos compuestos químicos prepara a las plantas para tolerar condiciones ambientales desfavorables, fenómeno conocido como priming o preacondicionamiento. Las poliaminas (PAs) son moléculas nitrogenadas, relacionadas con el crecimiento, desarrollo y defensa durante el estrés abiótico y biótico, lo que las constituye en candidatas interesantes para ser utilizadas en esta estrategia. Los metales pesados, como el cadmio (Cd), se encuentran dentro de los factores abióticos de tipo antropogénico que amenazan en la actualidad a las regiones cultivables. Para iniciar el estudio de las PAs como efectoras de priming se embebieron semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) en agua destilada (C) o 25µM de espermina (Spm), espermidina (Spd) o putrescina (Put) durante 3 h, en agitación (120 rpm), a 24±2 °C y en oscuridad. Luego fueron colocadas en contenedores sobre papel de filtro humedecido, mantenidas a similar temperatura, en oscuridad y protegidas de la desecación para su germinación. Al día 2 las plántulas fueron transferidas a macetas conteniendo vermiculita y regadas con

solución Hoagland (1/4) sin (C-C, Spm-C, Spd-C, Put-C) o conteniendo 200µM Cl₂Cd (C-Cd, Spm-Cd, Spd-Cd, Put-Cd) (fotoperiodo 14/10 h luz/oscuridad, 24±2 °C, 50% humedad relativa) hasta el día 7 desde el inicio del experimento. La pre-incubación con PAs incrementó significativamente la longitud de la raíz (hasta un 12% sobre C-C). Pero debido a que sólo la Spm evitó la disminución del crecimiento provocada por el Cd (Spm-Cd respecto de C-Cd) la investigación se centró en esta PA. Tanto el Cd como la Spm alteraron la homeostasis de las PAs libres y conjugadas en raíz. El Cd incrementó la Put total, independientemente de la presencia de Spm. Ambos factores elevaron el nivel de cadaverina total. El diaminopropano total aumentó en Spm mientras que la Spm disminuyó en C-C y Spm-C, efecto que fue revertido por la presencia del Cd. Si bien la Spm no evitó la acumulación de Cd, revirtió el incremento de Fe producido por el metal en la raíz. Frente a la presencia de Cd, la Spm (Spm-Cd) aumentó la actividad de superóxido dismutasa, guaiacol peroxidasa y el contenido de ácido indolacético (AIA) en la raíz. Por otro lado, la poliamina inhibió el incremento de especies reactivas del oxígeno producido por el metal en la raíz. Tanto el Cd como la Spm incrementaron el nivel de especies reactivas del nitrógeno en el ápice de la raíz. Se puede concluir que el priming con Spm evitó el desequilibrio redox producido por el metal, incrementando las defensas antioxidantes y evitando la acumulación del Fe, un metal redox activo. Los estudios continúan para confirmar los resultados preliminares y profundizar los estudios de las PAs sobre el crecimiento y otros factores de estrés abiótico.

BV52. Optimización de un protocolo de secuenciación de genoma completo de baja redundancia para girasol cultivado

Fass, M.I.*; Aguirre, N.; Gonzalez, S.; Martinez, M.C.; Vera, P.; Puebla, A.; Lia, V.V.; Marcucci Poltri, S.; Paniego, N.

Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina. *fass.monica@inta.gob.ar

El girasol cultivado, *Helianthus annuus* L., es un importante cultivo oleaginoso. Es valorado por su alto contenido de ácido linoleico, oleico, palmítico, esteárico y otros ácidos grasos insaturados. Además, mantiene un rendimiento estable a lo largo de distintos ambientes, favoreciendo su producción globalmente. Distintos programas de mejoramiento en el mundo se dedican a generar y mantener colecciones de líneas en pos de incorporar características agronómicamente significativas a los cultivares comerciales, haciendo uso de las variantes alélicas presentes en los materiales. El conocimiento genómico de las líneas de mejoramiento y pre-mejoramiento existentes resulta de gran utilidad para dilucidar los mecanismos moleculares de los caracteres agronómicos y seleccionar las líneas más promisorias. El genoma de girasol, de aproximadamente 3.6 Gb, fue secuenciado completamente a partir de la implementación de las tecnologías de secuenciación de tercera generación. La posibilidad de generar secuencias más largas que las secuencias repetitivas de girasol, los métodos mejorados de ensamblado y los recursos computacionales avanzados se convirtieron en herramientas valiosas para la generación de una referencia genómica completa para el cultivo. Actualmente, se cuenta con información genómica de distintas líneas mayoritariamente generadas con baja cobertura. Con el objetivo de caracterizar a nivel de genoma completo a la línea HA89, una de las líneas públicas más utilizadas tanto en mejoramiento como en investigación básica de girasol, se ha propuesto ensayar un protocolo de secuenciación a baja escala y baja redundancia basado en la generación de librerías libres de amplificación. Para la obtención de moléculas de alto peso molecular se realizó una extracción de núcleos seguido de la purificación del ADN. Posteriormente se generaron bibliotecas mediante el protocolo Nextera Mate Pair Gel-Free Sample Preparation (NEB, EEUU) y se procedió a una secuenciación de prueba con un equipo MiSeq (Illumina, EEUU). Se obtuvieron 177149 lecturas, de las cuales 95% pudo ser alineado al genoma de referencia XRQ v1. Estos resultados indican una buena calidad de la biblioteca y permitirán aumentar la cobertura de la secuenciación. A su vez, el protocolo de extracción de ADN implementado permite su combinación con tecnologías de secuenciación de tercera generación, asegurando un ensamblado del genoma de mejor calidad, así como también la caracterización de variantes estructurales. La colección de datos genómicos obtenidos de diversos

materiales posibilitará la construcción de un pangenoma y de expandir el uso de la diversidad genética en el mejoramiento.

BV53. Mecanismo de acción del efector TAL PthA4AT y su rol como controlador biológico en *Nicotiana benthamiana*

Roeschlin, R.A. (1,2,3); Chuán, A. (4); Uviedo, F. (2,3); García, L. (2,3); Martínez, F. (2,3); Molina C. (2,3); Boch, J. (5); Gadea, J. (4); Marano, M.R. (2,3)*.

(1) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Reconquista, Argentina. (2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). (3) Instituto de Biología Celular y Molecular de Rosario (IBR), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Rosario, Argentina. (4) Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España. (5) Instituto de Genética de Plantas, Universidad de Leibniz, Hanover, Alemania.

*marano@ibr-conicet.gov.ar

Xanthomonas citri subsp. *citri* (*X. citri*) es la bacteria responsable de la canchrosis A de los cítricos. *X. citri* expresa y secreta proteínas efectoras a través del sistema de secreción tipo III, incluidas las proteínas PthAs que actúan como factores de transcripción eucariótico (TAL, *Transcription Activator-Like*). La estructura superhelicoidal de los efectores TAL, a través de su di-residuo variable repetitivo (RVD), permite reconocer específicamente secuencias del ADN genómico, denominadas elemento de unión al efector (EBE) en el promotor del gen de la célula vegetal, activando la expresión del gen blanco. PthA4 con 17,5 repeticiones directas en la región central, es el principal efector TAL de virulencia secretado por todas las *Xanthomonas* formadoras del cancro cítrico, responsable de la transcripción de genes de susceptibilidad (S) que conducen al desarrollo de los síntomas característicos de la enfermedad. Nuestro equipo de investigación identificó y caracterizó una variante natural de *X. citri* (cepa AT) que induce una respuesta hipersensible (HR) en *C. limon* y *C. sinensis*. Se demostró que el efector bacteriano que desencadena este proceso es un TAL de 7,5 repeticiones directas, denominado PthA4AT, presentando reconocimiento ambiguo de bases nucleotídicas en dos de sus RVD. La expresión de PthA4AT es necesaria y

suficiente para inducir HR tanto en plantas hospedadoras (*C. sinensis*) como no hospedadoras de *X. citri* (*Nicotiana benthamiana*). Nuestra hipótesis de trabajo es que la interacción PthA4AT-ADN activa la expresión de al menos un gen de resistencia (R) e induce una HR. En este estudio se caracterizó el mecanismo de acción de PthA4AT, a través de la construcción de efectores artificiales de PthA4AT, utilizando los protocolos de la tecnología Golden TAL, pudiendo predecir las secuencias EBE en el genoma de *N. benthamiana*. A través del análisis transcriptómico se analizaron los principales procesos biológicos asociados con la HR en esta especie vegetal y se determinó el grado de protección de esta respuesta frente a virus y bacterias, demostrando que PthA4AT puede ser utilizado como controlador biológico. Estos resultados proporcionan una nueva estrategia para identificar genes R en plantas no hospedadoras que serán de gran utilidad para la búsqueda de resistencia a la canchrosis de los cítricos.

Financiamiento: ANPCyT (PICT 2018-03051), STSM EuroXanth CA16107

BV54. Las poliaminas como agentes de priming en trigo en condiciones de deficiencia de nitrógeno: estudios preliminares

Recalde, L. (1)*; Cabrera, A.V. (1); Groppa, M.D. (1,2); Benavides, M.P. (1,2).

(1) Departamento de Química Biológica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

(2) IQUIFIB-CONICET. *laurarecalde7@gmail.com

El trigo es un cultivo de importancia mundial y el nitrógeno (N) es un nutriente esencial. La germinación de semillas y establecimiento de plántulas son altamente susceptibles a la deficiencia de nutrientes. Entre las estrategias usadas para la aplicación de reguladores de crecimiento exógenos, el “priming” de semillas con compuestos químicos es una de las más novedosas. Las poliaminas (PAs) son moléculas nitrogenadas esenciales para el crecimiento e involucradas con la tolerancia al estrés. En este trabajo, las PAs se probaron como agentes de priming contra el déficit de N en trigo. Las semillas se trataron con H₂O (C), 50 µM de putrescina (Put), espermidina (Spd) o espermina (Spm) durante 3 h y luego se germinaron por 48 h. Las plántulas se cultivaron en hidroponía durante 8 días en cámara de crecimiento, en un medio de N completo (N7), moderadamente (N1) o altamente deficiente (N0.1). El N total de la hoja se redujo al 50% en medio N0.1

con respecto al N7 en C, pero un 35% en plantas tratadas con Spd o Spm. El crecimiento de las raíces se estimuló en deficiencia de N y este efecto se acentuó con las PAs. Las tres PAs mejoraron el crecimiento de la raíz en un 30% (promedio) cuando las plantas se cultivaron en medio N1 en comparación con el N7 respectivo, mientras que en las plantas C, este aumento fue del 15%. Las raíces de las plantas tratadas con Spm se elongaron un 45% más en N0.1 que en N7, mientras que este aumento fue del 29% en las plantas C. La actividad de nitrato reductasa aumentó con Spm (30% en N7 y 45% en N1) en comparación con C, pero permaneció casi indetectable cuando las plántulas crecieron en N0.1 en todos los tratamientos. El contenido total de nitratos y amonio fue menor en N1 y N0.1 en comparación con el medio N7 con todos los tratamientos, pero sorpresivamente fueron aún menores en las plantas tratadas con PAs. La concentración de proteínas disminuyó de N7 a N0.1, pero mientras que en las hojas no hubo diferencias entre el C y las plantas tratadas con Spm, las raíces mostraron 20% más proteínas en las plantas tratadas con Spm, en ambas condiciones de N. Los azúcares totales cayeron en las raíces con las tres PAs, tanto en N7 como en N0.1, en comparación con C, pero sus niveles aumentaron en las hojas un 70% en el medio N0.1, con los tratamientos de priming. Al tiempo 0 de tratamiento (48 h post-priming), los niveles de O₂·- y H₂O₂ fueron más altos en las raíces tratadas con Spm en comparación con el C. En el día 8 de crecimiento, ambas especies reactivas aumentaron en un grado similar en los tratamientos con Spm o C, tanto en N7 o N1. No hubo diferencias en los niveles de óxido nítrico. Estos resultados sugieren de manera preliminar que el priming con PAs, especialmente Spm, podría ser una estrategia de interés para favorecer la germinación de las semillas y el crecimiento post-germinativo de las raíces de trigo, mejorando el estatus nutricional de las plántulas para la supervivencia en suelos deficientes en N.

BV55. Análisis fisiológico y molecular de genotipos de maíz contrastantes para la tolerancia a estrés térmico

López, M.B. (1,2); Parrado, J.D. (3); Canteros, F.H. (3); Albornoz, P.L. (4,5); Salazar, S.M. (2,6); Moschen, S. (2,7)*.

(1) FBQyF – Universidad Nacional de Tucumán. (2) EEA – INTA Famaillá, Tucumán. (3) IIACS – INTA Leales, Tucumán. (4) Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo - Universidad Nacional de Tucumán. (5) Fundación Miguel Lillo. (6) Facultad de Agronomía y Zootecnia - Universidad Nacional de Tucumán. (7) CONICET. *moschen.sebastian@inta.gob.ar

El estrés abiótico es una de las principales limitaciones para la producción de cultivos y la seguridad alimentaria a nivel mundial. Esta situación se ha agravado en las últimas décadas debido a los cambios drásticos y rápidos en el clima global. El calor y la sequía son, sin duda, dos de los estreses más importantes con un impacto significativo en el crecimiento y rendimiento de los cultivos. El maíz es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y es un cultivo base para la alimentación humana y animal, además de su importancia socio-económica y cultural. El objetivo de este trabajo fue caracterizar a nivel fisiológico y molecular genotipos de maíz contrastantes para la tolerancia a estrés térmico y evaluar su asociación con la respuesta a estrés hídrico, a fin de ser utilizados luego para análisis *ómicos*. Se realizaron ensayos en fitotrón con dos genotipos de maíz pertenecientes al programa de mejoramiento del IIACS del INTA, previamente seleccionados por su respuesta a estrés térmico a campo: L3 tropical tolerante (LEA1669c) y L5 templado susceptible (LP562). Plantas de cuatro semanas de edad fueron sometidas a distintos tratamientos: (i) plantas control, (ii) estrés térmico, (iii) estrés hídrico, (iv) estrés térmico e hídrico. A distintos días post-tratamientos (dpt) se tomaron mediciones fenotípicas, materia seca y apertura estomática. Asimismo, los niveles de expresión de ocho factores de transcripción asociados a estrés térmico e hídrico fueron caracterizados mediante qPCR a fin de ser utilizados como biomarcadores e indicadores de estrés para futuros ensayos.

Estos resultados mostraron mayor cierre estomático en la línea tolerante L3 frente a los distintos estreses evaluados. Asimismo, los análisis de materia seca presentaron una disminución del 50% en la línea susceptible L5 respecto al control para los distintos estreses evaluados. Por otro lado, la línea tolerante L3 no mostró diferencias respecto al control frente a un estrés térmico, mientras que ante un estrés hídrico y térmico/hídrico solo presentó una disminución de materia seca cercana al 15%.

De los factores de transcripción evaluados, *ZmHSF04* y *ZmDREB2A* presentaron mayores niveles de expresión en la línea L3 a tiempos más tempranos (2dpt), seleccionándolos como biomarcadores candidatos. Asimismo, altos niveles de expresión de *ZmDREB2A* podría indicar además, una tolerancia relativa al estrés hídrico en la línea L3.

Los resultados de este trabajo permitieron optimizar las condiciones de crecimiento y tratamientos en condiciones controladas, confirmando el comportamiento evaluado a campo, lo que permitirá continuar con la caracterización de ambos genotipos a nivel de estudios ómicos y avanzar con el estudio molecular de las respuestas a estrés térmico e hídrico en el cultivo de maíz.

BV56. Un análogo de brasinoesteroide confiere tolerancia a la sequía en soja

Pérez-Borroto, L.S. (1,2)*; Guzzo, M.C. (3); Posada, G. (3); Costamagna, C. (3); Castagnaro, A.P. (1); González-Olmedo, J.L. (2); Pardo, E.M. (1); Coll-García, Y. (4).

(1) Instituto de Tecnología Agroindustrial del Noroeste Argentino (ITANOA), Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) /Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Las Talitas, Tucumán, Argentina. (2) Centro de Bioplasmas, Universidad de Ciego de Ávila “Máximo Gómez Báez”, Ciego de Ávila, Cuba. (3) Instituto de Fisiología y Recursos Genéticos Vegetales Victorio S. Trippi - Unidad de Estudios Agropecuarios (IFRGV-UDEA, INTA-CONICET), Córdoba, Argentina. (4) Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de La Habana, Cuba. *lpborroto@gmail.com

La soja es el principal cultivo oleaginoso del mundo y el de mayor importancia en Argentina, en términos económicos. A partir de la expansión agrícola y las restricciones impuestas por el cambio climático, hasta el 30% de la producción mundial de soja es afectada anualmente por incidencia de estreses ambientales como el déficit hídrico. Es por ello, que la generación de nuevas prácticas de manejo cultural, como la aplicación de bioestimulantes, constituye una alternativa

práctica para mitigar los efectos de la sequía. Los bioestimulantes basados en fitohormonas como los brasinoesteroides (BRs) intervienen en la regulación del crecimiento y la respuesta defensiva vegetal, reduciendo las pérdidas de rendimiento, y por ende, incrementando la tolerancia a estreses como la sequía. Sin embargo, la baja estabilidad en campo de los BRs naturales, impone el desarrollo de compuestos análogos con una vida media más alta. En la presente investigación, se caracterizó por primera vez el efecto del DI-31, análogo funcional de BR, en la fisiología de cultivares comerciales de soja sometidos a diez días de sequía. Además, se determinó el efecto de diferentes frecuencias de aplicación del compuesto en el rendimiento y componentes del rendimiento de dichos cultivares. Los resultados obtenidos demostraron que una sola aplicación foliar del análogo incrementó la tolerancia de las plantas al déficit hídrico impuesto, atenuando la reducción del área foliar, de clorofilas totales y del contenido relativo de agua, incrementando la eficiencia del uso del agua, la regulación de la transpiración y la eficiencia fotosintética. El DI-31 también mejoró la respuesta antioxidante enzimática y no enzimática, incrementando la acumulación de solutos compatibles y pigmentos fotoprotectores, reduciendo a su vez la tasa de peroxidación lipídica. Por otra parte, el DI-31, aplicado foliarmente cada 21 días durante el ciclo fenológico de cuatro cultivares comerciales de soja, (i) incrementó el rendimiento absoluto en un ~ 9% en condiciones de buena irrigación, (ii) redujo las pérdidas de rendimiento inducidas por la sequía en ~ 7% y (iii) aumentó en Índice Tolerancia a Sequía de los cultivares en un ~ 12%. Estos hallazgos demuestran el valor práctico del DI-31 como una alternativa ecológica para el manejo integrador de la resiliencia de la soja en condiciones de sequía.

BV57. La subtilasa fúngica AsES induce la activación de la inmunidad antiviral en plantas

Caro, M.D.P. (1,2,3)*; Venturuzzi, A.L. (2,3); Moschen, S. (1,3); Salazar, S.M. (1); Díaz-Ricci, J.C. (3,4); Asurmendi, S. (2,3).

(1) EEA INTA Famaillá, Tucumán. (2) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular – IABiMo – INTA - CONICET, Hurlingham, Argentina. (3) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). (4) Instituto

Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO), CONICET-UNT, San Miguel de Tucumán, Argentina.* caro.pilar@inta.gob.ar

AsES (*Acremonium strictum* Elicitor Subtilase) es una proteína purificada del sobrenadante del hongo patógeno *A. Strictum*. Se ha demostrado previamente que el pretratamiento con AsES, induce una respuesta de defensa en plantas de frutilla y *Arabidopsis*. Asimismo, se observó que AsES confiere protección frente a diversos patógenos, como el hongo hemibiotrófico *Colletotrichum acutatum* y el patógeno necrotrófico *Botrytis cinerea*. Considerando que la naturaleza así como el mecanismo de acción de compuestos que inducen actividad antiviral en plantas es ampliamente desconocido, el objetivo de este trabajo fue obtener la proteína AsES mediante expresión recombinante con el fin de evaluar su capacidad de gatillar respuestas de inmunidad antiviral. Los resultados de este trabajo mostraron que el tratamiento exógeno de plantas de *Arabidopsis* con la proteína AsES, reduce significativamente el título viral de TMV-Cg, correlacionándose además, con escasos síntomas de infección. Del mismo modo, resultados similares se obtuvieron en plantas de *Nicotiana benthamiana*, en donde se observó una reducción en el movimiento célula a célula y un retraso en el movimiento sistémico. El pretratamiento con la proteína recombinante AsES redujo significativamente la infección viral, y podría considerarse un candidato para ser explotado como una alternativa a las estrategias actualmente disponibles para activar la inmunidad antiviral en plantas, con bajos costos para el fitness de la planta y una defensa más robusta y efectiva en presencia del patógeno.

BV58. Bioprospección de metabolitos secundarios con potencial actividad antioxidante en harinas integrales del fruto de *Prosopis caldenia* Burkart de diferentes ecorregiones

Dalzotto, D. (1,2)*; Boeri, P. (1,2); Piñuel, L. (1,2); Sharry, S. (1,3)

(1) Universidad Nacional de Río Negro, Río Negro Viedma, Argentina. (2) CIT-Río Negro –CONICET, Viedma, Río Negro, Argentina. (3) Laboratorio de investigaciones en madera (LIMAD), Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

*danielacdalzotto@gmail.com

Actualmente los metabolitos secundarios (MS) de origen vegetal han atraído cada vez más la atención en el área de la biotecnología y la bioprospección debido sus numerosas propiedades y potenciales aplicaciones en la industria farmacéutica, cosmética y alimenticia. La identificación de estos compuestos a partir de recursos nativos podría ser relevante para su revalorización y el desarrollo de productos que promuevan las economías regionales. Argentina cuenta con varias especies endémicas que aún no han sido profundamente estudiadas en este aspecto, como es el caso del Caldén (*Prosopis caldenia* Burkart). En este sentido y teniendo en cuenta que la composición y cantidad de MS que sintetizan las plantas depende, entre otros aspectos, de las condiciones ambientales en las que se encuentren, el objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el contenido de compuestos fenólicos, antocianinas y capacidad antioxidante de la harina integral de vainas de caldén de las provincias de La Pampa (HILP) y de Río Negro (HIRN). Para ello, se realizaron extracciones de ambas harinas con etanol, metanol y acetona al 70%, con una relación muestra:solvente de 1:8. En cada caso, se determinó el contenido total de polifenoles (CTP), de antocianinas, mediante el método de diferencia de pH, y la actividad antioxidante (AO) a través de los métodos DPPH y ABTS. El CTP varió de acuerdo al extracto y fue: acetónico > etanólico > metanólico, para HILP ($12,04 \pm 0,15$; $8,89 \pm 0,5$; $8,42 \pm 0,23$ mg eq GAE/g de harina PF, respectivamente) y acetónico > metanólico > etanólico para HIRN ($26,89 \pm 1,07$; $25,31 \pm 1,02$; $21,79 \pm 0,06$ mg eq GAE/g de harina PF, respectivamente). El mayor contenido de antocianinas se obtuvo en el extracto metanólico, para el caso de HIRN ($20,28 \pm 1,3$ mg eq de C3GE/100 g de harina) y en el acetónico, para HILP ($1,8 \pm 0,85$ mg eq de C3GE/100 g de harina PF). Respecto a la AO, las muestras de Río Negro presentaron una actividad superior a la observada en las de La Pampa en ambos métodos. Para el método ABTS, el extracto acetónico presentó mayor AO para HIRN y HILP ($225,2 \pm 0,7$ y $78,3 \pm 0,8$ μ moles eq Trolox/g harina PH, respectivamente). Con el método de DPPH en ambos tipos de harinas, la mayor AO observada fue en los extractos etanólicos y acetónicos ($281,05 \pm 4,8$ y $78,41 \pm 1,92$ μ moles equivalentes de Trolox/g harina PH para HIRN y HILP, respectivamente). Tanto en términos de concentración de MS y de AO, la harina de Río Negro fue superior a la de La Pampa. Estos resultados podrían estar asociados a la diferencia en la ubicación geográfica de donde

proviene las muestras, ya que, en Río Negro, los ejemplares de *P. caldenia* se encuentran más expuestos a situaciones de estrés ambiental y ello, induciría una mayor síntesis de MS. Ambas harinas demostraron ser una potencial fuente de compuestos bioactivos con AO, los cuales pueden tener un amplio uso en el campo de la biotecnología y promover el biodesarrollo local.

BV59. Mapeo de QTLs en *Carthamus tinctorius* L.

Cerrotta, A. (1)*; Zappacosta, D. (1), Gallo C: A. (3); Lindström, L.I. (2); Echenique, V. (1).

(1) Departamento de Agronomía, Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS-CONICET, CCT, Bahía Blanca, Argentina). (2) Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur, Argentina. (3) Departamento de Ciencias de la Computación, Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CCT-Bahía Blanca).

*acerrotta@cerzos-conicet.gob.ar

El cártamo es una especie anual de la familia de las asteráceas, cultivada como oleaginosa en regiones semiáridas. La calidad industrial de su grano depende del contenido de materia grasa, que está negativamente correlacionada con el contenido de cáscara (CC). Su producción posee una importancia secundaria, por lo que el estado del arte en el desarrollo de información genómica es limitado, comparado a otras especies. El estudio de los caracteres de interés para el mejoramiento puede ser abordado a través del mapeo de QTLs sobre un mapa de ligamiento, creado a partir del genotipado de una población biparental. Las poblaciones F₂ poseen baja resolución de mapeo, no detectan interacciones del QTL con el ambiente, pero son fáciles y rápidamente constituidas.

Informamos aquí la obtención de un mapa de ligamiento medianamente saturado basado en una F₂ derivada de un cruzamiento entre parentales contrastantes para el carácter CC (WSRC03 y Montola 2000). El genotipado se realizó por Dartseq (SAGA-CIMMYT), y el mapa de ligamiento mediante el software JointMap5, consensuándolo con el genoma de referencia a nivel de *scaffolds* de Bowers *et al* (2016). El análisis de agrupamiento se realizó mediante el test de independencia con el estadístico LOD (logaritmo de las probabilidades) y el mapeo mediante el

algoritmo de regresión. Los 91 individuos F₂ fueron cultivados en el año 2018 en un campo experimental de Cabildo (Buenos Aires). El CC de los frutos se obtuvo por el descascarado manual de 20 frutos. Se utilizó el modelo de mapeo múltiple de QTLs del software MAPQTL6, que no contempla la epistasis y que utiliza los marcadores como cofactores.

Los marcadores obtenidos (43.561) fueron filtrados por el haplotipo de los parentales, y por su segregación teórica (1:2:1 y 3:1, para SNP e INDeLs, respectivamente). El análisis de agrupamiento se realizó a partir de 673 marcadores y resultó en 23 grupos de ligamiento (GL), pero se descartaron los GLs en los que el algoritmo de mapeo no convergió. Se obtuvo un mapa final de 18 GLs, con una extensión de 798 CM y un total de 263 marcadores. Los GLs tuvieron entre 2 y 82 marcadores, con una extensión de 1,34 a 125 CM. La alineación con el genoma de referencia generó 12 subconjuntos de GLs, lo que se correspondió con el número básico de la especie.

Los parentales exhibieron 52,19% (WSRC03) y 32,48% (Montola 2000) de CC. Entre los 79 individuos que generaron frutos, el promedio del CC fue de $42,43 \pm 3,52\%$, con un mínimo de 33,70% y un máximo de 54,70% siguiendo una distribución normal. Se hallaron seis QTLs asociados al CC, en los cuales predominaron los efectos de dominancia. El LOD de estas regiones osciló entre 3,72 y 6,11. El efecto de estos QTLs sobre el fenotipo fue entre 7,3% y 12,9%, considerado pequeño a moderado. Este estudio representa un avance hacia el conocimiento de la arquitectura de un carácter de gran relevancia en la calidad del cártamo y en la generación de herramientas útiles para aplicar en el mejoramiento.

BV60. Selección *in vitro* de plantas mutantes de zarzamora (*Rubus fruticosus* Cv. Tupi) resistentes a *Botrytis cinerea* a partir de ápices irradiados con rayos gamma

Huerta-Olalde, A.M. (1); Hernández-García, A. (1); López-Gómez, R. (1); Pedraza-Santos, M.E. (2); Fernández-Pavía, S.P. (3); Zavala-Páramo, M.G. (4); Salgado-Garciglia, R. (1)*.

(1) Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, Edif. B3 Ciudad Universitaria, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), CP 58030, Morelia, Michoacán México. (2) Facultad de Agrobiología Presidente Juárez,

UMSNH, CP 60180, Uruapan, Michoacán, México. (3) Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, UMSNH, CP 58880 Tarímbaro, Michoacán, México. (4) Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UMSNH, CP 58194, Morelia, Michoacán, México.
*rafael.salgado@umich.mx

La zarzamora (*Rubus fruticosus*) es un cultivo de importancia económica en México, principalmente en el Estado de Michoacán, que presenta la enfermedad del moho gris, causada por *Botrytis cinerea*. En la presente investigación, se propone la selección de plantas de zarzamora mutantes irradiadas con rayos gamma para la selección de resistencia a este hongo. Ápices de brotes de plantas micropropagadas de zarzamora (*R. fruticosus* Cv. Tupi) fueron tratadas con cinco dosis de radiación gamma (Cobalto-60) (0, 15, 30, 45 y 60 Gy), y cultivados en el medio basal Murashige y Skoog (MS) con 1.0 mgL⁻¹ de benciladenina (BA) y 0.06 mgL⁻¹ de ácido indol-3-butírico (IBA), 3% de sacarosa y 8% agar (pH 5.7) denominado MSB, bajo condiciones de cultivo de 16 h de fotoperiodo, 36 µmolm⁻²s⁻¹ de intensidad lumínica y a una temperatura de 25 ± 1°C. La supervivencia se evaluó después de 28 días de cultivo, determinando 30.2 Gy como la dosis letal media (LD₅₀). La irradiación masiva (200 brotes) se realizó con la LD₅₀ y los explantes fueron cultivados durante 28 días para seleccionar 98 brotes sobrevivientes, los que fueron micropropagados en el medio MSB durante 60 días para la generación de líneas mutantes. Los brotes se individualizaron de cada línea para su cultivo en MS con 0.05 mgL⁻¹ de BA, obteniendo plántulas mutantes de zarzamora sin cambios morfológicos, las que fueron utilizadas para realizar la selección *in vitro* de líneas resistentes a *B. cinerea*, mediante la exposición de plántulas a la CL₅₀ del filtrado estéril del propio hongo (4 gL⁻¹), obtenida por el cultivo de plantas no irradiadas (control) durante 28 días en MS con 0, 2, 4, 6, 8 y 10 gL⁻¹ de filtrado estéril de *B. cinerea*. Después de este proceso de selección, 32 líneas de plantas mutantes sobrevivieron con porcentajes mayores al 50%, las que fueron sometidas a ensayos de resistencia *in vitro*, utilizando el método de inoculación *in vitro* (1x10³ esporas mL⁻¹ de *B. cinerea*) sobre hojas completas cultivadas en medio agar-agua. Después de 14 días de la inoculación, se seleccionaron tres líneas mutantes con resistencia (rfgum5, rfgum6 y rfgum17), debido a que no presentaron ningún o un mínimo de síntomas de infección

ocasionados por el hongo, en relación a las plantas control, que mostraron una infección del 100% a los 7 días del cultivo. Estos resultados demuestran la viabilidad de la radiación gamma para obtener plantas de zarzamora resistentes a *B. cinerea* y es perspectiva de la presente investigación, la realización de pruebas de resistencia en estas plantas mutantes, cultivadas bajo condiciones de invernadero y campo, así como realizar su caracterización agromorfológica y genética.

BV61. Estudios de Mapeo por Asociación para la identificación de regiones genómicas involucradas en la resistencia a la avispa de la agalla y cancro del tallo en *Eucalyptus grandis*

García, M.N. (1); Aguirre, N.C. (1); Villalba, P.V. (1); Rivas, J.G. (1); Acuña, C.V. (1)*; Martínez, M.C. (1); Carreras, R. (2); Morán, M. (3); Arévalos, C. (3); Elizaul, J. (3); Hopp, H.E. (1); Grattapaglia, D. (4); Cisneros, E.F. (2); Marcucci Poltri, S.N. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Argentina. (2) Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Santiago del Estero, Argentina. (3) Desarrollos Madereros, S.A., Paraguay. (4) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Recursos Genéticos y Biotecnología, Brasilia, Brasil. *acuna.cintia@inta.gob.ar

Eucalyptus es el género forestal más difundido en las plantaciones de todo el mundo. En las últimas décadas, la productividad de las plantaciones forestales se vio amenazada por el surgimiento de plagas y patógenos como *Leptocybe invasa*, la “avispa de la agalla del eucalipto” y *Teratosphaeria gauchensis* y *T. zuluensis*, agentes causales de la enfermedad fúngica del cancro del tallo (antes, cancro por *Coniothyrium*).

Estas enfermedades provocan severas pérdidas en la producción y daños en los distintos materiales genéticos utilizados en los Programas de Mejoramiento Genético (PMG). El empleo de estrategias de asociación de todo el genoma (GWAS) para la identificación de QTL (loci de características cuantitativas) para

la resistencia a insectos y patógenos, es de interés para asistir a la selección de materiales de manera temprana durante el desarrollo del PMG.

En este trabajo se identificaron QTL y genes candidatos para la resistencia a *L. invasa* y al complejo fúngico causante de la enfermedad del cancro del tallo.

La población base perteneciente a la empresa Desarrollos Madereros S.A. (Paraguay) consiste en un ensayo de 782 árboles de *E. grandis* (progenie de 382 madres) con cinco clones por árbol replicado en seis sitios, totalizando 23460 árboles. Se seleccionaron entre 1 a 9 medio hermanos de acuerdo a los valores extremos del diámetro a la altura del pecho a los 44 meses (DAP44), dentro de cada familia. Se genotiparon un total de 689 individuos (Proyecto BiotechII EuropeAid/136-457) con el EUChip60K (de 60000 SNP) contando con 20634 marcadores SNP polimórficos y una cobertura promedio de 1876 marcadores por cromosoma. Para el fenotipado para tolerancia a *L. invasa*, se trabajó con una escala binaria en la cual se asigna 0 (cero) a los árboles cuyo ningún clon presentó daño y 1 (uno) a aquellos en que al menos un clon presentó algún nivel de daño para los 689 individuos. En cuanto al cancro del tallo se obtuvieron los BLUP clonales con información de la población base la cual fue medida a los 27 y 44 meses mediante una escala categórica con valores entre 0 y 6.

Los análisis GWAS detectaron 3 marcadores SNP asociados, a la resistencia a *L. invasa* en 3 de los 11 cromosomas de *Eucalyptus*, que explican el 7,8 % de la varianza. Para la resistencia al cancro del tallo, resultó en 4 SNPs asociados en 4 cromosomas (2 SNPs para la característica medida a los 27 meses y 2 SNP para la medición a los 44 meses) que explican conjuntamente 10,58% de la variación fenotípica.

El análisis de regiones genómicas adyacentes de los SNPs asociados a ambos caracteres arrojó 8 genes de interés entre los cuales se destacan 2 proteínas de resistencia a enfermedad (TIR-NBS-LRR class) a 3,9Kb de uno de ellos.

En este trabajo, dado que se tomó un criterio exigente para considerar a los fenotipos como resistentes, se identificaron fundamentalmente los loci con mayor efecto para la resistencia a estos estreses bióticos.

BV62. La inmunización oral con una proteína de choque térmico vegetal (Hsp90) – fusionada a un péptido del antígeno de superficie 1 (SAG1) de *Toxoplasma gondii* y producida en plantas de tabaco provoca fuertes

respuestas inmunes y reduce el número de quistes y los signos clínicos de toxoplasmosis en ratones

Sánchez, E.F. (1); Corigliano, M.G. (1); Oliferuk, S. (1); Ramos, V.A. (1); Rivera, M. (2); Mendoza, L. (1); Ángel, S. (2); Sander, V. (1); Clemente, M. (1)*.

(1) Laboratorio de Molecular Farming y Vacunas - Instituto Tecnológico de Chascomús, Buenos Aires - Argentina. (2) Laboratorio de Parasitología Molecular - Instituto Tecnológico de Chascomús, Buenos Aires - Argentina.

*mclemente@Intech.gov.ar

La proteína vegetal de choque térmico de 90 kDa (Hsp90) es un potente adyuvante que aumenta las respuestas inmunitarias humorales y celulares a diversas proteínas y péptidos. En este estudio, exploramos los efectos inmunes de una construcción constituida por el antígeno de superficie 1 (SAG1) de *Toxoplasma gondii* fusionado a la proteína Hsp90 de *Arabidopsis thaliana* y expresada transitoriamente en plantas de *Nicotiana benthamiana*. Obtuvimos dos construcciones que contienen secuencias SAG1 (aa221 a aa319 [SAG1HC], que contienen solo los epítomos antigénicos de las células B y T; y aa77 a aa323 [SAG1m], el antígeno maduro) fusionadas con la proteína Hsp90 de *A. thaliana* (AtHsp81.2). AtHsp81.2-SAG1HC tuvo los niveles de expresión más altos de las dos proteínas de fusión (80 a 120 µg/g de hoja fresca). Los ratones se inmunizaron por vía oral con hojas frescas infiltradas con AtHsp81.2-SAG1HC (pAtHsp81.2-SAG1HC), AtHsp81.2 SAG1HC recombinante purificada de hojas infiltradas (rAtHsp81.2-SAG1HC), hojas frescas no infiltradas (Wild Type–WT) y buffer PBS como controles. Las muestras de suero de ratones inmunizados con pAtHsp81.2-SAG1HC tenían niveles significativamente más altos de anticuerpos anti-rSAG1m de inmunoglobulina IgGt, IgG2a e IgG2b que el suero de los grupos rAtHsp81.2-SAG1HC, WT y PBS. El número de quistes por cerebro en los ratones inmunizados con pAtHsp81.2 SAG1HC se redujo significativamente, y la carga de parásitos en el tejido cerebral también fue menor en este grupo en comparación con los grupos restantes. Además, se demostró que AtHsp81.2 SAG1HC expresado en plantas reaccionaba con anticuerpos de personas infectadas con *T. gondii*. La incorporación de la proteína de plantas (Hsp90) como vehículo/adyuvante en formulaciones contra *T. gondii* podría mejorar

sustancialmente la eficacia de la vacuna en humanos. Por lo tanto, las plantas pueden ser un sistema biotecnológico adecuado y potente para la expresión de antígenos contra la toxoplasmosis.

BV63. Estrategias para la obtención de variedades de arroz tolerantes a condiciones de estrés abiótico mediante edición génica

Trionfini, V.*; Welchen, E.; Chan, R.L.; Attallah, C.V.

Unidad de Transformación Vegetal, IAL, UNL, CONICET, CCT CONICET Santa Fe, Argentina. *vtrionfini@santafe-conicet.gov.ar

El arroz (*Oryza sativa* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial. Se trata de un alimento básico que proporciona más calorías por hectárea que cualquier otro cultivo de cereales. Debido al cambio climático, tanto las condiciones de estrés biótico como abiótico afectan su producción causando enormes pérdidas económicas. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la demanda de productos agrícolas aumentará alrededor del 70% para el 2050, por lo que la producción anual de cereales debe incrementarse consecuentemente para alimentar a la población mundial.

En el laboratorio estudiamos factores de transcripción miembros de la familia HD-Zip (HD, homeodominio responsable de la unión a ADN; Zip, cierre de leucinas que actúa como dominio de dimerización) de clase I en plantas. Se demostró que la sobreexpresión de proteínas del tipo HD-Zip I aumenta la sensibilidad frente al ácido abscísico (ABA) y disminuye la tolerancia ante el déficit de agua o el incremento de la salinidad de los suelos. Mutantes insercionales que presentan una disminución significativa en la expresión de estas proteínas presentan menor sensibilidad ante el tratamiento con ABA, y un aumento en la tolerancia frente a estreses hídrico y salino, sin presentar diferencias en cuanto a su morfología y caracterización fenotípica comparadas con las plantas salvajes. Con el objetivo de obtener plantas con ventajas adaptativas y de interés agronómico, que incorporen la nueva tecnología de edición génica, obtuvimos variedades de arroz con expresión alterada de dos miembros de la familia de proteínas HD-ZipI de arroz, OsHDZIPI.2 y OsHDZIPI.4, mediante la tecnología CRISPR/Cas9. Generamos 10

líneas editadas en OsHDZIPI.2 y 15 líneas editadas en OsHDZIPI.4. Como criterio de búsqueda y selección de las mejores líneas de plantas editadas, realizamos ensayos de germinación empleando diferentes concentraciones de NaCl, utilizando cultivos líquidos en agitación. Seleccionamos aquellas líneas que presentaron más de un 50% de germinación en la concentración de NaCl más elevada, dentro de las evaluadas. Estas líneas se analizaron mediante secuenciación, lo que nos permitió comprobar que todas las líneas analizadas de OsHDZIPI.2 están editadas, presentando de 1 a 8 inserciones y/o deleciones que modifican el marco de lectura de la misma. Por otro lado, el 75% de las líneas analizadas de OsHDZIPI.4 están editadas presentando 1 inserción y/o deleción. Las líneas seleccionadas están siendo caracterizadas fenotípicamente en condiciones controladas de crecimiento en invernadero. En paralelo, estamos realizando ensayos de crecimiento en condiciones de salinidad y estrés por déficit hídrico, a fin de evaluar la capacidad de estas líneas editadas de crecer y tolerar mejor estas condiciones de crecimiento, con una mínima o nula penalidad en la producción de granos al final del ciclo de vida.

BV64. Resultados preliminares para la propagación *in vitro* de *Prosopis caldenia* Burkart, una especie multipropósitos endémica de argentina

Dalzotto, D. (1,2)*; Huenelaf, V. (1); Piñuel, L. (1,2); Boeri, P. (1,2); Sharry, S. (1,3). (1) Universidad Nacional de Río Negro, Río Negro Viedma, Argentina. (2) CIT-Río Negro –CONICET, Viedma, Río Negro, Argentina. (3) Laboratorio de investigaciones en madera (LIMAD), Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

*danielacdalzotto@gmail.com

El Caldén (*Prosopis caldenia* Burkart) es una especie leñosa endémica de la Argentina ampliamente utilizada por su valor maderero, forrajero y alimenticio. Sin embargo, los bosques de caldén son unos de los más deforestados, debido a la extensión de la frontera agrícola y el consecuente desplazo de la ganadería. Teniendo en cuenta el valor de uso actual y potencial de *P. caldenia* y la degradación de su base genética, es urgente implementar estrategias para recuperar, propagar, aprovechar y conservar la variabilidad genética de las sus

poblaciones. Ello requiere de la aplicación de metodologías eficientes para la multiplicación de esta especie, como el cultivo de tejidos *in vitro* (CTV). EL objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta morfogénica de *P. caldenia* al CTV frente a diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina (BAP). Se utilizó como fuente de explantes, plántulas obtenidas a partir de la germinación *in vitro* de las semillas en agarosa. Para ello, éstas fueron desinfectadas con una inmersión de 5' en una solución de etanol 70% (v/v), 15' en NaClO 30% (v/v) y luego fueron enjuagadas repetidamente con agua destilada estéril. Como explante se utilizaron plántulas de 10 días sin radícula, la cual fue cortada 1 cm por debajo de los cotiledones. Los explantes fueron cultivados en medio Murashige & Skoog a la mitad de la concentración suplementado con BAP 4,4 μ M (T1) y BAP 6,7 μ M (T2) y en ausencia de reguladores de crecimiento (control). Cada tratamiento constó de tres repeticiones de 15 explantes, los cuales fueron controlados semanalmente durante 5 semanas. Al finalizar el ensayo, se observó que los explantes pertenecientes al control fueron los que más elongaron (3,16 \pm 0,3 cm) y presentaron diferencias significativas respecto de T1 (2,76 \pm 0,6 cm) y T2 (2,76 \pm 0,4 cm). Respecto al número promedio de brotes por explante, no se observaron diferencias significativas entre los tres tratamientos (3,4 \pm 0,9 para el control; 3,3 \pm 0,9 para el T1 y 3,5 \pm 1,2 para T2). Sin embargo, se observó una mayor presencia de brotes múltiples en T1 y T2, respecto del control. En T2 se obtuvo el mayor porcentaje de explantes con brotes múltiples (48,8 \pm 9 %). El T1 presentó un 28,8 \pm 8,2 % de brotes múltiples y el control 11,1 \pm 9,8 %. En los tratamientos con BAP, todos los explantes desarrollaron callos en la zona de contacto con el medio de cultivo (región del hipocótilo). Sin embargo, la proliferación de brotes múltiples en ambos tratamientos fue a partir de una organogénesis directa. Los resultados demuestran que la proliferación de brotes incrementó junto con el aumento de la concentración de BAP. La respuesta morfogénica observada en este trabajo resulta un aspecto de relevancia para la puesta a punto de un protocolo de micropropagación eficiente para *P. caldenia*.

BV65. Producción de antraquinonas en raíces transformadas de *Rubia tinctorum* cultivadas en un biorreactor de agitación por onda de un solo uso mediante la combinación de elicitación y remoción *in situ*

Perassolo, M. (1,2)*; Cardillo, A.B. (1,2); Busto, V.D. (1,2); Giulietti, A.M. (1,2); Rodríguez Talou, J. (1,2).

(1) Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de Microbiología, Inmunología, Biotecnología y Genética. Cátedra de Biotecnología. Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET-Universidad de Buenos Aires. Instituto de Nanobiotecnología (NANOBIOTEC). Buenos Aires, Argentina.
*mariap@ffyb.uba.ar; miriperassolo@gmail.com

Las antraquinonas (AQs) son metabolitos secundarios tradicionalmente utilizados como colorantes en la industria que presentan actividad antiviral y antitumoral. Su producción en cultivos de raíces transformadas combina la seguridad de los cultivos vegetales, el bajo impacto ecológico y la producción homogénea. Algunas limitaciones de esta plataforma son los bajos niveles de acumulación de metabolitos secundarios y el escalado.

Se estudió la producción de AQs en raíces transformadas de *Rubia tinctorum*, cultivadas en medio Lloyd and McCown's Woody Plant (WPM) en un biorreactor de agitación por onda de un solo uso (BioFlexsafe RM 2L, de 1 L de volumen operativo, en Biostat RM Basic Rocker 20 L, Sartorius), las cuales fueron elicidadas con Metil Jasmonato (MJ) 100 μ M, y tratadas con Miglyol 812 (M812; 1:5) como segunda fase (remoción *in situ*). En paralelo, se realizó un cultivo control en el mismo tipo de biorreactor y cultivos en erlenmeyeres (condiciones control, MJ 100 μ M, M812 1:5 y MJ-M812). La cosecha se realizó a los 7 días. No hubo diferencias entre los tratamientos en la biomasa final alcanzada. El MJ incrementó las AQs intracelulares con respecto al control (3,9 veces) y al tratamiento con M812 (3,8 veces), mientras que con el tratamiento MJ-M812 se logró un aumento similar a MJ solo (4 veces con respecto al control). La remoción *in situ* fue eficaz, ya que parte de las AQs se acumularon en la fase M812. En presencia de MJ, el contenido de AQs de esta fase fue 4 veces mayor al observado en su ausencia. Si bien la máxima producción de AQs totales se observó en el tratamiento MJ-M812, no hubo diferencias significativas con respecto a MJ solo. Las raíces cultivadas en los biorreactores de un solo uso mostraron una performance similar al cultivo en erlenmeyeres. Estos resultados muestran la eficacia de la combinación de estrategias para favorecer la acumulación de metabolitos secundarios y la

factibilidad de cultivar raíces transformadas en biorreactores de agitación por onda.

BV66. Identificación de las dehidrinas de *Chenopodium quinoa* y caracterización de su respuesta al estrés salino

Melgar, A. (1,2); Rizzo, A. (2,3); Cenizo, R. (1); Moyano, L. (1,3); Burrieza, H. (3); Zelada, A.M. (1,2)*.

(1) Laboratorio de Agrobiotecnología, Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Biodiversidad y Biología

Experimental y Aplicada, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas-Universidad de Buenos Aires (IBBEA, CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina (3) Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. *azelada@fbmc.fcen.uba; azelada.uba@gmail.com

Las dehidrinas son proteínas intrínsecamente desordenadas y altamente hidrofílicas, que se acumulan durante los estadios tardíos del desarrollo de la semilla y en los tejidos vegetativos en respuesta al estrés hídrico. La capacidad de estas proteínas para conferir tolerancia a las plantas en situaciones de sequía, salinidad o temperaturas extremas las ha convertido en objeto de gran interés al momento de desarrollar estrategias para mejoramiento. La quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es una planta halófila facultativa capaz de prosperar en un amplio rango de condiciones edafoclimáticas, lo que la vuelve una planta de interés para estudios de tolerancia al estrés. En este trabajo, hemos identificado in silico y caracterizado la expresión tejido-específica y en respuesta al estrés salino de las distintas dehidrinas codificadas en el genoma de quinoa. De las dehidrinas identificadas aislamos y clonamos dos cuya expresión es regulada frente al estrés salino. Por otra parte, el análisis de las secuencias promotoras de genes que codifican dehidrinas en la familia *Amaranthaceae* nos permitió identificar motivos capaces de ser reconocidos por factores de transcripción que se encuentran implicados en respuesta a estrés. Un mejor entendimiento acerca de la relación

que existe entre las dehidrinas y el estrés abiótico permitirá elucidar los mecanismos a través de los cuales las plantas responden al estrés del ambiente y así desarrollar estrategias más eficaces para el mejoramiento vegetal.

BV67. Caracterización de promotores tejido-específicos de *Sorghum bicolor* para su aplicación en la obtención de plantas resistentes a la infección por hongos del género *Claviceps*

Cossio, L.A. (1); Moyano, L. (1,3); Schrauf, G. (4); Zelada, A.M. (1,2)*.

(1) Laboratorio de Agrobiotecnología, Departamento de Fisiología, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de

Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (2) Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas-Universidad de Buenos Aires (IBBEA, CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina (3) Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. (4) Cátedra de Genética, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. * azelada@fbmc.fcen.uba; azelada.uba@gmail.com

Los hongos del género *Claviceps*, son patógenos biótropos que atacan las inflorescencias produciendo el aborto de flores y reemplazando a las semillas por sus esclerocios. Estos hongos afectan numerosas especies de las familias *Poaceae*, *Juncaceae* y *Cyperaceae*, dentro de las que se encuentran especies forrajeras y cerealeras de gran importancia económica en nuestro país. La infección por estos fitopatógenos afecta dramáticamente el rendimiento de los cultivos disminuyendo la producción de semillas y generando una sustancia tóxica que causa en el ganado la enfermedad conocida como ergotismo. La posibilidad de obtener plantas resistentes a la infección por *Claviceps* mediante la expresión de genes con actividad antimicrobiana específicamente en los tejidos blancos del hongo representa una alternativa sustentable para prevenir el potencial efecto negativo de la expresión del transgén en la palatabilidad del cultivo y/o su impacto en la rizosfera. Con este fin, se identificaron, clonaron y caracterizaron a partir del

genoma de *S. bicolor* dos promotores de genes que codifican *Lipid Transfer Proteins* (LTPs). Se analizó la expresión espacial y temporal de dichos promotores en plantas transgénicas de *A. thaliana* y se estudió su respuesta frente a estrés biótico y abiótico. Para ello se utilizó el gen reportero GUS bajo el control de los promotores estudiados y se analizaron líneas transgénicas de baja, media y alta expresión. La tinción histoquímica se detectó principalmente en los órganos florales, sin embargo, para uno de los promotores también se observó expresión en cotiledones y tricomas. La actividad de ambos promotores se vio inducida con los tratamientos de estrés y frente a la respuesta hormonal. La expresión específica de estos promotores en los tejidos blancos de infección, sugiere que los mismos podrán ser utilizados como una estrategia efectiva para la obtención de plantas resistentes a la infección por hongos del género *Claviceps*.

BV68. Predicción de metabolitos secundarios en árboles de *Eucalyptus* mediante modelos de genotipificación y fenotipado de alto rendimiento

Mora-Poblete, F.*; Basoalto, L.; Ahmar, S.; Ballesta, P.

Universidad de Talca, Chile. *morapoblete@gmail.com

Las plantas producen metabolitos secundarios que les permiten llevar a cabo funciones celulares esenciales para los procesos fisiológicos. De hecho, el metabolismo secundario en las plantas es un mecanismo de adaptación y evolución como defensa frente a los factores ambientales que inducen el estrés. En el presente resumen, se muestran los resultados de un estudio de predicción de prolina, azúcares totales (AT) y glucósidos cianogénicos (HCN) en árboles de *Eucalyptus cladocalyx* cultivados en condiciones de aridez del norte de Chile. Para ello, se muestrearon hojas maduras frescas, y completamente expandidas, de más de 300 árboles individuales, en las cuales se extrajeron los metabolitos secundarios. Se utilizaron modelos de predicción genómica basados en regresión BRR (Bayesian Ridge Regression) para estimar los efectos de polimorfismos de nucleótido único (SNP) y bloques de haplotipos. Adicionalmente, se midió la reflectancia espectral de las muestras de hojas en un rango espectral de 350–2500 nm. Desde el punto de vista genómico, los modelos de predicción basados en haplotipos tuvieron un poder predictivo mayor que el enfoque basado en SNP

para HCN. Predicciones basadas en haplotipos, tuvieron un poder predictivo de 0,47, 0,65 y 0,71, para HCN, prolina y AT, respectivamente. El poder predictivo fue al menos un 25% superior para HCN con el uso de los modelos de predicción basado en la reflectancia espectral, mostrando un mejor ajuste que las predicciones basadas en genómica. Como conclusión, se destaca la importancia de utilizar un enfoque integrativo de predicción, basados en genómica y fenómica, para obtener mejores ajustes de los modelos predictivos.

BV69. Análisis de asociación de todo el genoma en *Eucalyptus grandis* para la identificación de loci de caracteres complejos: crecimiento, calidad y composición química de la madera

García, M.N.* (1); Aguirre, N.C. (1); Villalba, P.V. (1); Rivas, J.G. (1); Acuña, C.V. (1); Martínez, M.C. (1); Carreras, R. (2); Morán, M. (3); Arévalos, C. (3); Elizaul, J. (3); Hopp, H.E. (1); Rodrigues, J.C. (4); Grattapaglia, D. (5); Cisneros, E.F. (2); Marcucci Poltri, S.N. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria y Consejo Nacional de Investigaciones Científica y Técnicas (INTA-CONICET), Hurlingham, Pcia. Buenos Aires, Argentina. (2) Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Santiago del Estero, Argentina. (3) Desarrollos Madereros, Pomera SA, Paraguay. (4) Centro de estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal. (5) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Recursos Genéticos y Biotecnología, Brasília, Brasil. *garcia.martin@inta.gob.ar

Eucalyptus grandis es una de las especies más importantes en todo el mundo en las plantaciones forestales para la producción de madera dura, gracias a su rápido crecimiento, buena adaptabilidad y múltiples usos de su madera (papel, celulosa, madera sólida). Es originaria de Australia y tiene una amplia distribución en zonas tropicales y subtropicales del mundo.

Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) aportan valiosa información decodificando las relaciones entre la variación de la secuencia y los fenotipos complejos, superando al mapeo clásico de locus de rasgos cuantitativos (QTL) mediante cruzamientos biparentales. El mapeo por GWAS permite mapear variaciones genotípicas responsables de los rasgos importantes gracias a las recombinaciones históricas de la población. En particular para especies forestales, posibilita identificar regiones genómicas implicadas en rasgos costosos o difíciles de medir y que tienen relevancia comercial para continuar con los programas de mejora que requieren más tiempo que las especies vegetales de interés agronómico.

En este estudio, se realizó un análisis de GWAS para cuatro rasgos de crecimiento (DAP: diámetro a la altura de pecho, corteza, forma y rajado) y seis caracteres de composición química de la madera (extractivos totales, extractivos etanólicos, relación siringilo/guayacilo de lignina, lignina total, celulosa, hemicelulosa) evaluados mediante espectroscopia NIR (*Near Infrared*) en una población clonal de *E. grandis* perteneciente a la empresa Desarrollos Madereros S.A. (Paraguay). Se analizaron 689 árboles plantados en seis sitios, con 23400 árboles, con un diseño de fila por columna y cinco réplicas (diseño en quintuple tree plot con 6 réplicas). La misma fue genotipada con el sistema de alta densidad de marcadores EuChip60K de 60.000 SNPs, resultando en 20634 SNP luego de filtrar por $MAF > 0,05$ y datos perdidos $< 10\%$. Los datos perdidos fueron imputados mediante BEAGLE. El análisis de GWAS se realizó mediante un modelo lineal mixto, que incorporó la estructura de la población evaluada utilizando Structure 2.3.4, siendo $K=3$ el valor más probable, definido por DK. Mediante este análisis se detectaron 15 asociaciones únicas de SNP que explicaron individualmente el 2,23-4,11% de la varianza fenotípica observada. En comparación con los QTLs mapeados previamente disponibles en la literatura, estos resultados destacaron regiones genómicas nuevas. En ese sentido, se realizó un análisis de las regiones genómicas adyacentes empleando la herramienta BLASTX de Phytozome, detectando genes candidatos ya descritos como implicados en las características evaluadas.

Este conocimiento de los QTLs descubiertos y genes identificados puede ser incluido en los modelos de predicción genómica para los caracteres evaluados y acelerar los programas de mejoramiento.

BV70. HaHB11, las olas y el viento

Raineri, J. (1)*; Caraballo, L. (1); Franco, M.A. (1); Rigalli, N.F. (2); Portapila, M. (2); Otegui, M.E. (3); Chan, R.L. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina. (2) Centro Franco Argentino de Ciencias de la Información y de Sistemas, CIFASIS (CONICET-UNR), Rosario, Argentina. (3) Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura, IFEVA (FAUBA-CONICET), C.A.B.A, Argentina.

*jesica.raineri@ial.santafe-conicet.gov.ar

Debido al cambio climático, los cultivos están expuestos a episodios de estrés abiótico más severos y reiterativos. Para sobrellevar estas circunstancias, las plantas modulan su transcriptoma, proteoma y metaboloma. En este proceso los factores de transcripción (FT) cumplen un rol central. Los FTs son proteínas que regulan la expresión de muchos genes corriente abajo en las vías de señalización y permiten a las plantas adaptarse a su entorno. HaHB11 es un FT de girasol que le confiere a *Arabidopsis* tolerancia a sequía e inundaciones y genera un incremento en su producción. Para evaluar si estas mejoras se reproducen en especies de interés agronómico, se obtuvieron plantas de maíz B73 que expresan HaHB11 bajo el promotor CaMV35S (eventos E2 y E3). Se evaluó el desempeño en condiciones normales de desarrollo en invernadero y a campo y se observaron mejoras en el rendimiento de las plantas transgénicas respecto de sus controles. Decidimos avanzar con el estudio de genotipos más similares a los comerciales y obtuvimos híbridos B73 x Mo17. Los híbridos transgénicos mostraron mayor rendimiento que los controles (+20%). Estas plantas también se evaluaron en eventos de inundación. Realizamos ensayos de anegamiento durante dos semanas en estadio V3, estadio en el que el maíz es especialmente sensible a este estrés. Observamos que las plantas transgénicas presentaron mayor área foliar y conductividad estomática y mayor número de haces vasculares en tallos que sus controles. También desarrollaron raíces más largas y con mayor biomasa y menor estrés oxidativo que sus pares sin transformar. Asimismo, las HaHB11 presentaron menor pérdida de oxígeno radial que las raíces control. En las transgénicas en anegamiento, se observó a lo largo del tratamiento una regulación

diferencial de genes que codifican proteínas involucradas en el metabolismo anaeróbico. Además, las HaHB11 presentaron mayor concentración de carbohidratos en raíces y mayor contenido de carotenoides en hojas que los controles. Luego de dos semanas de estrés, las plantas se pasaron a condiciones normales y al final del ciclo, las transgénicas rindieron más semillas (+15%).

Una de las evaluaciones a campo experimentó una tormenta con fuertes ráfagas de viento, que provocó la pérdida total de hojas hacia el final del período crítico. Sin embargo, las transgénicas mostraron mayor rendimiento que sus controles (+20%). Se realizaron ensayos de defoliación controlada en invernadero y a campo con resultados similares. Durante los ensayos a campo (condiciones control, inundación y defoliación) se tomaron datos de reflectancia espectral de canopy en el rango VIS-NIR, cuyo análisis permitió identificar índices de vegetación que correlacionan con las observaciones fenotípicas y diferencian a los genotipos. Estos datos son muy alentadores y reafirman el uso de HaHB11 como una herramienta para el mejoramiento vegetal y apuntan al uso de sensores remotos como un instrumento valioso para el fenotipado.

BV71. Estimación de la variabilidad genética generada en poblaciones mutagenizadas de caña de azúcar

Di Pauli, V. (1)*; Fontana, P.D. (1); Lewi, D.M.(2); Felipe, A. (1); Erazzú, L.E. (1). (1) Estación Experimental Agropecuaria Famaillá, INTA, Argentina. (2) Instituto de Genética "Ewald A. Favret", INTA, Argentina.* dipauli.valentina@inta.gob.ar

La caña de azúcar presenta un genoma altamente complejo y una estrecha base genética que dificultan la obtención de genotipos superiores mediante el mejoramiento clásico. En este sentido, los esfuerzos por mejorar la caña de azúcar se están focalizando en la biotecnología y tecnologías alternativas para generar nueva variabilidad genética. La mutagénesis *in vitro* se ha convertido en una herramienta útil en el desarrollo de mutantes, especialmente en plantas de propagación vegetativa, combinando la variación somaclonal generada por el cultivo *in vitro* y la inducción de mutaciones. Además, la regeneración de plantas mutantes *in vitro* disminuye la frecuencia de aparición de quimeras. El objetivo de este trabajo fue inducir variabilidad genética en un genotipo elite de caña de

azúcar del INTA con la finalidad de obtener poblaciones de plantas mutantes y estimar la variabilidad genética generada por mutagénesis *in vitro*. Se expusieron callos embriogénicos del genotipo INTA CP 98-828 a diferentes dosis (0, 8, 16, 32 y 48 mM) de etil metanosulfonato (EMS) durante 3 h para inducir variación genética. Los resultados mostraron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la capacidad de recuperación de los callos, la sensibilidad de los callos al mutágeno y la capacidad de regeneración entre las dosis de EMS evaluadas. Las concentraciones de EMS ≤ 32 mM fueron adecuadas para regenerar un número óptimo de plantas normales en el cv. INTA CP 98-828, encontrándose por debajo de las DL50 (dosis letal media) determinadas para la regeneración de plantas y recuperación de callos embriogénicos, 31,68 mM (IC 95% 29,59 a 33,77) y 47,11 mM (IC 95% 45,31 a 48,91) de EMS, respectivamente. Las cuatro poblaciones (0, 8, 16 y 32) de somaclones y/o plantas mutantes obtenidas se evaluaron fenotípicamente a campo, para una exploración preliminar de la variación genética generada mediante el cultivo *in vitro* y/o la aplicación de EMS. Se midieron caracteres culturales tales como número de tallos, longitud y diámetro de tallo, longitud del entrenudo medio, número de entrenudos y peso de tallo individual, y caracteres de calidad fabril, tales como contenido de sólidos solubles en jugo ($^{\circ}\text{Brix}$), concentración de sacarosa en caña (Pol%ca) y el rendimiento fabril estimado. Los resultados demostraron que la dosis 32 mM presentó mayor variabilidad genética entre las dosis de EMS, con valores medios a altos de heredabilidad en sentido amplio ($>0,5$), sin un efecto en detrimento de los caracteres culturales y de calidad fabril evaluados, incluso algunos atributos mostraron incrementos de la media poblacional respecto al genotipo wild type. Estos resultados presentan la posibilidad de aprovechar este enfoque para introducir nuevas variantes genéticas en germoplasma elite (o selecto) del Programa de Mejoramiento Genético de Caña de azúcar del INTA.

BV72. Selección genómica en *Eucalyptus dunnii*: comparación de predicciones obtenidas empleando una estrategia de Genotipado por secuenciación y el sistema comercial de SNP EuChip60K

Aguirre, N.C. (1)*; Villalba, P.V. (1); Filippi, C.V. (1); Rivas, J.G. (1); García, M.N. (1); Acuña, C.V. (1); Martínez, M.C. (1); López, J.A. (2); López, A.J. (2); Pathauer,

P. (3); Palazzini, D. (3); Harrand, L. (4); Oberschelp, J. (4); Marcó, M. (4); Cisneros, E.F. (5); Carreras, R. (5); Rodrigues, J.C. (6); Cappa, E.P. (3); Norma, N.B. (1); Hopp, H.E. (1); Grattapaglia, D. (7); Marcucci Poltri, S.N. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina. (2) Estación Experimental INTA Bella Vista, INTA, Argentina (3)

Instituto de Recursos Biológicos, CIRN, INTA, Argentina. (4) Estación Experimental INTA Concordia, INTA, Argentina (5) Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Argentina (6) Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal (7) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Brasil. *aguirre.nataliacris@gmail.com

Eucalyptus dunnii Maiden ha cobrado mayor relevancia a nivel mundial en los últimos años por combinar crecimiento, rectitud de fuste y buenas cualidades para pulpa para papel con potencial para otros usos; siendo una alternativa en áreas templadas y con mayor frecuencia de heladas.

En Argentina, el INTA desde 1991 cuenta con un Programa de Mejoramiento Genético para la especie de amplia base genética y actualmente ofrece al sector productivo semilla mejorada localmente para crecimiento y rectitud de fuste. La estrategia de Selección Genómica (SG) permite predecir fenotipos a partir de modelos que emplean datos genómicos y fenotípicos (GBLUP) e incluyendo el pedigrí (ssGBLUP).

En este trabajo se genotiparon 280 árboles de una población de *E. dunnii* de 1520 árboles, aplicando un sistema comercial de 60.000 SNPs (EuChip60K) y una estrategia de Double digest Restriction-site associated DNA sequencing (ddRADseq) puesta a punto para esta especie en particular; obteniendo 8.170 (ddRADSeq) y 19.045 (EuChip60K) SNPs (datos perdidos por SNP <20%, MAF > 0,01, LD: $r^2 > 0,2$).

Se compararon los desempeños de ambas metodologías de genotipificación para GBLUP y ssGBLUP sobre 14 caracteres relacionados con crecimiento y propiedades químicas de la madera. Para cada modelo se aplicaron 10 validaciones cruzadas (90:10) y se compararon (pruebas t pareadas, $p < 0,05$) los predictores de mérito genético de acuerdo con su exactitud teórica (ET) y habilidad predictiva (HP, correlación entre el fenotipo observado ajustado por efectos de

diseño y el estimado) respecto de las predicciones convencionales basadas en pedigree (ABLUP).

Los enfoques genómicos proporcionaron valores de ET promedio para los 14 caracteres más altos (ssGBLUP: ddRADseq=0,357, EUChip60K=0,343; GBLUP: ddRADseq=0,299, EUChip60K=0,289) que ABLUP (0,269), con una diferencia significativa para la mayoría de ellos (13 para ssGBLUP y 10 para GBLUP).

ABLUP presentó valores promedio mayores de HP (0,163) para todos los caracteres (ssGBLUP: ddRADseq=0,138, EUChip60K=0,145; GBLUP: ddRADseq=0,105, EUChip60K=0,111), significativos solo para 4 caracteres con ssGBLUP y para 6 con GBLUP.

Para ET con ambas predicciones genómicas, ddRADseq presentó valores significativamente mayores que EUChip60K para 4 caracteres y el EUChip60k fue mayor que ddRADseq para 2 de los caracteres. Para los valores de HP no se encontraron diferencias significativas entre ddRADseq y EUChip60K para ninguno de los caracteres y con ninguno de los modelos predictivos.

Para los modelos de SG evaluados, si bien la metodología de ddRADseq presenta limitaciones en cuanto a reproducibilidad entre experimentos, en esta población se obtuvieron resultados robustos y comparables al EUChip60K. Con un menor número de SNPs, obtenidos con un protocolo ajustado y con un filtrado estricto, por calidad y profundidad de secuenciación, es una alternativa útil, sobre todo para especies que aún no cuentan con un microarreglo propio.

BV73. Descripción del pardeamiento del fruto en una colección de germoplasma de duraznero y análisis preliminar de su control genético mediante un estudio de asociación de genoma completo

Aballay, M.M. (1); Galiñanes, A.E. (1); Valentini, G.H. (2); Sánchez, G. (1)*

(1) Laboratorio de Biotecnología, (2) EEA San Pedro, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). 2930 San Pedro, Argentina.

*sanchez.gerardo@inta.gob.ar

El pelado y cortado de los frutos durante el consumo en fresco desencadena el pardeamiento enzimático que involucra el cambio de color de la pulpa adquiriendo una tonalidad marrón. Si este fenómeno es excesivo y/o se encuentra acelerado

afecta la apariencia de la fruta siendo una causa de insatisfacción en los consumidores. Si bien el pardeamiento enzimático recibió mucha atención en algunas especies de frutas, su implicancia para el consumo en fresco de durazno fresco en la colección de germoplasma de duraznero de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) San Pedro, y analizar su control genético durante una campaña a través de un estudio de asociación de genoma completo (GWAS). Se cosecharon frutos a partir de 141 genotipos (108 de pulpa amarilla y 33 de pulpa blanca) entre noviembre de 2020 y febrero de 2021. Por cada genotipo se analizaron 9 duraznos maduros a los cuales se les realizó un corte transversal sobre la fruta y se midió el color de la pulpa inmediatamente (t_0). Los duraznos cortados se mantuvieron expuestos a temperatura ambiente y luego de transcurrir una hora se volvió a medir el color de la pulpa (t_1). Las mediciones de color se realizaron con un colorímetro Minolta CR-300 y se expresó en el sistema de color LCh. El estudio de asociación se realizó para el carácter color de pulpa (amarilla/blanca) y para las diferencias entre t_1 y t_0 (Δ) de las variables de color objetivo, como caracteres fenotípicos, junto a un set de 14.222 marcadores moleculares (SNP, InDel y SSR) obtenidos mediante una plataforma basada en ddRAD-seq. Al analizar el comportamiento de los genotipos, se demostró que los duraznos amarillos muestran un menor cambio de color con respecto a los blancos medido mediante ΔC ($\alpha < 0.001$) y se identificaron genotipos con un pardeamiento exacerbado dentro de éstos últimos. El análisis de GWAS identificó un QTL en el cromosoma 1 para el color de pulpa (LOD=8,49) que explica 37% de la variancia. En el caso de la diferencia entre variables de color objetivo, ΔC presentó asociación con marcadores que co-localizan con el QTL de color de pulpa en el cromosoma 1 (LOD=6,59, $R^2=26\%$) y se identificó un QTL adicional en el cromosoma 5 (LOD=7,31, $R^2=28\%$). De comprobarse la estabilidad de los QTL en las próximas campañas se volverá una herramienta útil para nuestro programa de mejora, ya que se podrá seleccionar para el color de la pulpa y, en el caso de los duraznos blancos, se podrá eliminar de forma temprana genotipos con tendencia a un pardeamiento excesivo mediante el genotipado de poblaciones de mejora.

BV74. Identificación de genes/QTLs asociados a la resistencia a roya amarilla utilizando mapeo por asociación

Roncallo, P.F. (1); Campos, P. (2).; Ammar, K. (3); Huerta Espino, J. (3); Dreisigacker, S. (3); Achili, A.L. (1); Gonzalez, L. (4); Martino, D. (4); Larsen, A. (2); Echenique, V. (1)*.

(1) Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS), Departamento de Agronomía, Universidad Nacional del Sur (UNS)-CCT CONICET, Bahía Blanca, Argentina. (2) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Bordenave/Tres Arroyos, Buenos Aires, Argentina. (3) International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), El Batán, Edo. de México, México. (4) BUCK Semillas S.A., Necochea, Argentina.

*echeniq@criba.edu.ar

El trigo candeal (*Triticum turgidum* L. cv. *durum*) es la materia prima por excelencia para la fabricación de pastas secas, debido a la dureza y vitrosidad de su grano. En Argentina el área de cultivo ocupa 129.255 ha (2020/21), distribuidas entre el sureste bonaerense, la región centro y el NOA. La productividad del cultivo se ve reducida frecuentemente debido a la ocurrencia de estreses bióticos como las royas. Entre ellas, la roya estriada o roya amarilla (YR) causada por el hongo fitopatógeno *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* (Pst) es capaz de causar pérdidas de rendimiento de 5 a 25% y la aparición de nuevas razas altamente virulentas la han convertido en una enfermedad grave para el cultivo de trigo candeal. Uno de los métodos más efectivos para prevenir estas pérdidas es desarrollar cultivares resistentes con alto potencial de rendimiento. En este estudio, se evaluó una colección de 197 cultivares y líneas avanzadas de distintos orígenes para la resistencia a la roya amarilla, en condiciones de campo, bajo infección natural y controlada en cuatro ambientes de cultivo (Argentina y México). Además, se evaluó la respuesta a infecciones en estadio de plántula utilizando razas colectadas localmente. En el estudio del desequilibrio de ligamiento (DL), estructura poblacional y mapeo por asociación, se utilizó una matriz de 4.854 SNP neutros y 9 localizados en genes. El valor umbral obtenido para el decaimiento del DL intra-cromosómico fue de 11,8 Mb en todo el genoma. Se identificó la presencia de cinco subpoblaciones utilizando un análisis discriminante de componentes principales. Once genotipos mostraron altos niveles de resistencia en al menos 3 ambientes y solo 3 en el total de ensayos. Se identificaron 15 SNP

distribuidos en los cromosomas 1A, 1B, 2A, 2B, 3A, 5B, 6A y 7B asociados en 3 ambientes a resistencia en planta adulta, utilizando un modelo lineal mixto (MLM). Dos regiones localizadas sobre los cromosomas 2B y 7B fueron mapeadas en los 4 experimentos a campo. Seis marcadores SNP localizados sobre los cromosomas 1A, 2A, 4B y 7B se asociaron con una resistencia raza-específica en estadio de plántula y a campo. El marcador SNP (AX-94750339) del 7B se asoció mediante un modelo lineal generalizado (GLM) a la resistencia raza-específica (Yr19-48W) en estadio de plántula, y correspondió a un polimorfismo dentro del gen Phospholipase D (TRITD7Bv1G227700). Estos resultados contribuyen a la comprensión de la base genética de la resistencia a la roya amarilla aportando marcadores de utilidad para el mejoramiento genético mediante su uso en selección asistida.

BV75. GENeTyC: Uniendo biotecnología con el sector agro-productivo

Fernández, A.C.; Moreno, N.; Rodrigo, J.M.; Echenique, V.*

Centro de Recursos Naturales Renovables de la Zona Semiárida - CERZOS (CONICET), Argentina. *echeniq@criba.edu.ar

El laboratorio GENeTyC (CERZOS-CONICET) ofrece servicios especializados de selección asistida por marcadores y caracterización genética, a fin de optimizar programas de mejoramiento o acelerar proyectos de investigación. El servicio está implementado para cubrir las necesidades de investigadores y empresas (privadas y públicas), prestando soporte técnico especializado para los programas de mejoramiento de los principales cultivos, así como también de una gran variedad de especies de importancia en investigación. De esta manera, nuestra misión principal se logra al disminuir la brecha existente entre el desarrollo de tecnología a este nivel y la aplicación directa por parte de los demandantes de dicha tecnología.

Desde nuestra plataforma realizamos extracción de ADN a alto caudal y cuantificación de calidad, así como también genotipado para selección asistida por marcadores para la identificación de homocigotos susceptibles y resistentes y heterocigotos (Marcadores co-dominantes). También brindamos asesorías y

servicios bioinformáticos a los usuarios, logrando un resultado integral que ofrece eficiencia y precisión en la toma de decisiones.

El genotipado que GENeTyC brinda se realiza con un sistema de vanguardia tecnológica que utiliza marcadores moleculares SNP (polimorfismo de un solo nucleótido), sobre una plataforma de tecnología KASP (*Kompetitive Allele Specific PCR*). Este sistema es actualmente es el más utilizado por las principales empresas semilleras especializadas en mejoramiento a nivel internacional, ya que es uno de los más flexibles y adecuados para selección asistida por marcadores. Permite identificar genotipos individuales que poseen la combinación de genes deseada o monitorear varios genes a la vez. A su vez, brindamos servicios de análisis moleculares con una amplia variedad de marcadores.

Esta variedad de tecnologías brinda una elevada capacidad de trabajo a gran escala y bajo costo, logrando una rápida obtención de resultados de fácil interpretación. Este método flexible y dinámico puede ser utilizado para muchos SNPs en algunas muestras, o pocos SNPs en muchas muestras, transformándose en una herramienta muy útil para seleccionar genes de difícil fenotipado, como aquellos responsables de resistencias a enfermedades, rasgos poligénicos o de manifestación específica en un determinado período.

Desde nuestros inicios trabajamos con las principales empresas mejoradoras y semilleras del país y la región, brindando servicios a una gran variedad de laboratorios, asistiéndolos en el desarrollo de sus proyectos de investigación. De esta forma nuestros usuarios logran un aumento de la eficiencia seleccionando individuos en etapas tempranas del desarrollo, para caracteres fenotípicos de difícil determinación.

Si está interesado en conocer más de nuestros servicios, pueden visitarnos en:

<https://cerzos.conicet.gov.ar/index.php/servicios/37-servicios-del-cerzos-genetyc>

O escribinos a: genetyc@cerzos-conicet.gob.ar

BV76. Análisis de la diversidad genética y estructura poblacional en una población de mejoramiento de *E. camaldulensis* para bioenergía

Villalba, P.V. (1)*; Aguirre, N.C. (1); García, M.N. (1); Acuña, C.V. (1); Rivas, J.G. (1); Martínez, M.C. (1); Ludueña, A. (2); Diaz, M. (2); Pathauer, P.S. (3); Cappa,

E.P. (3); Grattapaglia, D. (4); Hopp H.E. (1); Carreras, R. (2); Cisneros, F. (2); Marcucci Poltri, S. N. (1).

(1) Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina. (2) Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Argentina. (3) Instituto de Recursos Biológicos, INTA, Argentina. (4) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasil. *villalba.pamela@inta.gob.ar

Conocer y mantener la diversidad genética en los programas de mejoramiento forestal es crucial para una mejora sostenible a largo plazo, ya que es un recurso potencial para la rápida adaptación a los cambios climáticos y a los futuros objetivos de mejoramiento.

Eucalyptus camaldulensis Dehnh es uno de los eucaliptos ampliamente utilizados en poblaciones para bioenergía debido a su alto valor dendroenergético, cualidad que se ve potenciada por el rápido crecimiento del género. En Argentina, la Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE) instaló, en 1996, un ensayo de progenies de la especie compuesto por 88 familias de polinización abierta (entre 1 a 12 individuos por familia) de 14 procedencias distintas (13 procedencias de Australia y una de África. A pesar de su importancia, hasta el momento no ha sido evaluada su diversidad genética y la estructura poblacional de dicha población, empleando herramientas moleculares. En este trabajo, se analizaron 689 individuos del ensayo (de 2200 árboles), utilizando el panel comercial EUChip60K (60000 SNPs), obteniendo un total de 20037 SNP polimórficos distribuidos a lo largo del genoma, con un promedio de 1821 SNP por cromosoma. Los valores promedio de diversidad genética obtenidos fueron elevados y acordes a los esperados para la especie y al tipo de marcador empleado (Contenido de información polimórfica, PIC = 0,27; Heterocigosis observada, $H_o = 0,35$ y; Heterocigosis esperada, $H_e = 0,34$).

Al estudiar la estructura poblacional, los individuos se asignaron a seis subgrupos y para la estimación de la proporción de la varianza genética entre los mismos, resultó en una baja diferenciación ($F_{ST} = 0,062$). Esto último indicaría que los individuos están más relacionados entre sí que lo esperado por su origen geográfico, conformando subgrupos acordes al flujo génico de donde provienen.

Los resultados obtenidos revelan que esta población tiene una amplia diversidad genética útil para realizar un manejo poblacional más efectivo y generar materiales mejorados que podrán ser transferidos a productores primarios vinculados a esta especie. Asimismo, el análisis de la estructura de la población obtenida permite conocer la proporción exacta de la procedencia de cada material y podría ser incluido en estudios a futuro de asociación de mapeo amplio y selección genómica.

BV77. Búsqueda y caracterización de los genes de resistencia (genes R) en girasol

Tolentino, M.A. (1); Contreras Moreira, B. (2); Rivarola, M. (1,3); Lia, V.V. (3); Paniego, N.B. (3); Filippi, C.V. (1,3)*.

(1). Programa Académico para la Investigación e Innovación en Biotecnología, Universidad Nacional de Moreno–UNM, Moreno 1744, Argentina. (2). European Molecular Biology Laboratory, European Bioinformatics Institute, Wellcome Genome Campus, Hinxton, Cambridge CB10 1SD, UK. (3). Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular–IABiMo–INTA-CONICET, Instituto de Biotecnología, Centro de Investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Hurlingham 1686, Argentina. *

cfilippi@unm.edu.ar

Los genes de resistencia codifican para proteínas que reconocen patógenos, permitiendo a la planta defenderse de enfermedades. Aquí presentamos la búsqueda y caracterización del repertorio completo de genes de resistencia en girasol, una de las principales oleaginosas en Argentina.

A partir del proteoma de la especie (XRQ-V1.0, 52191 proteínas) y usando tres herramientas públicas (DRAGO2, RRGPredictor y RGAugury), se identificaron 4184 potenciales proteínas codificadas por genes de resistencia, de las cuales 1150 fueron consideradas para estudios posteriores por haber sido identificadas por las tres estrategias. Se estableció una clasificación de 26 categorías para las mismas, basada en combinaciones de dominios proteicos, siendo TM_LRR_STTK (receptor transmembrana tirosina-quinasa, con repeticiones ricas en leucina) la

categoría más abundante (n=317 proteínas codificadas por genes R en esta categoría). En paralelo, se exploraron distintas métricas para la caracterización de estos genes, entre ellas longitud de las secuencias codificantes, frecuencias de di y trinucleótidos, su distribución por cromosoma (CHR), agrupamiento en clústeres y, usando datos previos del grupo, la frecuencia de polimorfismos (SNP) entre genes de resistencia y no-R.

Se observó que los genes de resistencia son significativamente más largos que los no-R ($p < 0.001$); no se observaron diferencias en número de SNP/pb (pares de bases) entre ellos. Respecto de su distribución, los CHR13 y CHR06 son los que más y menos genes de resistencia acumulan, respectivamente (145 genes R en CHR13 vs. 33 genes R en CHR06). De los 1150 genes de resistencia putativos, 622 se agrupan en clústeres (2-7 genes/clúster, distancia $< 200\text{Kb}$. entre ellos). Finalmente, la combinación de estos resultados con datos disponibles en bibliografía y generados por nuestro grupo de trabajo, permitió la identificación de 29 genes con potencial interés para su uso en mejoramiento, por encontrarse próximos a regiones asociadas con resistencia a enfermedades. De este modo, este constituye el primer trabajo de identificación y caracterización del repertorio completo de genes de resistencia en girasol, como potencial insumo para asistir el mejoramiento del cultivo basado en estrategias biotecnológicas.

BV78. Mapeo por asociación a genoma completo para la resistencia a enfermedades fúngicas en girasol

Filippi, C. (1,2)*; Quiroz, F. (1); Colombo, D. (1); Corro-Molas, A. (1); Alvarez, D. (1); Heinz, R. (1); Lia, V.V. (1); Paniego, N.B. (1).
(1). Universidad Nacional de Moreno—UNM, Argentina. (2). Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. *filippi.carla@inta.gob.ar

Argentina tiene una larga tradición en el mejoramiento de girasol, siendo su germoplasma un recurso genético invaluable a nivel mundial. Actualmente, el cultivo presenta una importante brecha entre el rendimiento real y el rendimiento potencial debido principalmente a estreses bióticos y abióticos.

La podredumbre húmeda del capítulo (PHC) causada por *Sclerotinia sclerotiorum* y más recientemente el cancro de tallo y capítulo (CTCG) en girasol causado por el complejo *Diaporthe/Phomopsis helianthi*, constituyen dos de las enfermedades más importantes para el cultivo en el país.

En este trabajo, presentamos un estudio de asociación a genoma completo (GWAS) para la identificación de loci implicados en el proceso de resistencia a estas enfermedades. Un panel de 135 líneas endocriadas de girasol fue evaluado a campo en la EEA INTA Balcarce (PHC) y AER INTA General Pico (CTCG). Para PHC, las variables incidencia (DI), severidad (DS), área bajo la curva de progreso de la enfermedad para incidencia y severidad (AUDPCI, AUDPCS) y período de incubación (IP) fueron utilizadas como descriptores de la respuesta, tras realizar inoculación asistida con ascosporas del patógeno en tres ensayos fenotípicos. Para CTCG, las variables incidencia y severidad de cancro de tallo (DI_CT, DS_CT) y de cancro de capítulo (DI_CC, DS_CC) fueron registradas tras dos ensayos realizados en infectarios naturales. Las medias ajustadas para cada variable se obtuvieron aplicando modelos lineales generalizados mixtos.

En cuanto al genotipo, para estos materiales se contaba con una matriz de ~11K polimorfismos de nucleótido simple (SNPs), generados por “genotipado por secuenciación”. Aquí, cabe mencionar que dicha matriz fue obtenida utilizando como referencia la versión 1 (V1) del genoma de girasol, y actualmente se encuentra disponible una versión más acabada (V2). De esta forma, se desarrolló una estrategia propia para transformar las coordenadas V1->V2, y se utilizó la matriz resultante para GWAS.

Luego de corregir por estructura poblacional (componentes principales) y parentesco, se identificaron 12 marcadores asociados con resistencia a PHC (4 con DI, 1 DS, 1 AUDPCI, 2 AUDPCS, 4 IP) y 8 asociados con CTCG (4 DI_CT, 2 DS_CT, 2 DS_CC), luego de aplicar correcciones múltiples. Los cromosomas CHR02, CHR05, CHR10 y CHR12 fueron los que más marcadores asociados acumularon. La exploración del genoma anotado arrojó que 6 de estos marcadores co-localizan con genes de resistencia (genes R).

Este análisis integrador de datos moleculares y fenotípicos aporta herramientas para la futura generación de materiales portadores de resistencia múltiple y durable a enfermedades fúngicas.

BV79. Biorremediación de efluentes hospitalarios mediante dos sistemas de humedales construidos

Elkhalili, R.; Nakayama, H.D.; Ayala, J.; Peralta, I.; Samudio Oggero, A.*

Laboratorio de Biotecnología, Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay.

*asamudio@rec.una.py

Los efluentes hospitalarios contienen microorganismos patógenos y sustancias que pueden llegar a ser muy tóxicos, por lo que la disposición final, en los cauces hídricos naturales sin un tratamiento adecuado representa un grave problema medioambiental y a la salud pública. En tal sentido la Universidad Nacional de Asunción (UNA), a través del Centro Multidisciplinario de Investigaciones Científicas (CEMIT) ha estado desarrollando diversos proyectos de fitorremediación con la especie *Typha domingensis* para el tratamiento de diferentes tipos de efluentes. El presente proyecto tiene por objetivo evaluar la eficiencia de retención y/o absorción de diferentes parámetros de contaminación de efluentes hospitalarios de dos sistemas de humedales construidos, uno constituido por plantas de typhas en flotación y otro sistema constituido por plantas de typhas en sistema de flujo sub-superficial en el cual las plantas están en grava. Los resultados preliminares demuestran que ambos sistemas han disminuido en menos de 80% las concentraciones de DQO, DBO₅, Oxígeno Disuelto, Nitrógeno Total, Fósforo Total, *Coliformes* Totales, *Coliformes fecales* y *Escherichia coli*, y por debajo de lo que establece las normas del Ministerio del Ambiente, por lo que se recomienda su uso para el tratamiento de efluentes hospitalarios.

PREMIOS REDBIO Argentina 2021

▪ Premio REDBIO a la Trayectoria

La Comisión Directiva por unanimidad decidió otorgarle el premio REDBIO a la Trayectoria a la Dra Sandra Sharry. Tuvimos en cuenta su presencia activa en REDBIO Argentina y en la Fundación REDBIO Internacional, su tenacidad y empuje, su optimismo y su actividad constante para la enseñanza y consolidación de la biotecnología en nuestro país. Prueba de todo esto queda reflejado en los siguientes párrafos:

Es Doctora en Ciencias Naturales (Universidad Nacional de La Plata, Argentina). Ex Decana y Vice decana de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales UNLP y Ex Directora de la Maestría en Bioética (UMSA). Profesora Titular de numerosos cursos: Introducción a la Dasonomía; Biotecnología aplicada a la producción vegetal (UNLP); Silvicultura y Educación ambiental (UNRN). También, profesora de Agrobiotecnologías en el Doctorado de la Universidades del NOA (DOCA) y de Tecnologías emergentes en la Maestría de Bioética (UMSA). Investigador Categoría 1 en el Laboratorio de Investigaciones de la Madera (LIMAD) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales-UNLP. Coordinadora Centro Tecnológico de la Madera (UNLP)- Coordinadora del Proyecto USUBI (MAYDS-PNUMA). Vice-Presidente de ProDiversitas (Programa Panamericano de Defensa y Desarrollo de la Diversidad biológica, cultural y social). Fue coordinadora de la Mesa de Bioeconomía Forestal (MINCyT), así como Consultora CTPD de FAO, en extensión, comunicación y bioseguridad de la biotecnología moderna, trabajando en varios países en vías de desarrollo. Fue Lead Author del International Assessment of Agricultural Knowledge, Science and Technology for Development-Global Chapter (IAASTD). Es miembro de la CONABIA (Comisión Nacional Asesora de Biotecnología Agropecuaria). Ha escrito varios libros, capítulos y artículos de su especialidad. Actualmente dirige o co-dirige 6 tesis de doctorado relacionadas con la biotecnología forestal.

En lo que se refiere a su actividad en la REDBIO, es Tesorera de REDBIO Internacional (Red de Biotecnología para América Latina y el Caribe) e integra la Comisión Directiva de REDBIO Argentina AC.

▪ Premios y Menciones de Trabajos Presentados al XIII Simposio REDBIO Argentina 2021

Sistema de Evaluación:

Los 121 resúmenes presentados al Simposio REDBIO 201 fueron evaluados por el Comité Científico. Este Comité estuvo integrado por Adrián Vojnov, Atilio Castagnaro, Clara Rubinstein, Eduardo Blumwald, Elizabeth Agostini, Esteban Hopp, Gabriela Levitus, Graciela Salerno, María de la Paz Santangelo, Maria

Rosa Marano, Ruth Heinz y Viviana Echenique. Los resúmenes fueron evaluados sin los nombres de los autores y sus lugares de trabajo. Entre los trabajos aprobados, se destacaron 18 trabajos para su presentación en forma virtual.

Para la presentación oral de los resúmenes seleccionados, se organizaron 3 sesiones denominadas **Sesiones orales de posters destacados**, que se realizaron del miércoles 8 al jueves 10 de junio, de 11,30 a 12,30 hs.

Para la evaluación final de los trabajos se creó un Comité de Evaluación de Posters que estuvo integrado por Esteban Hopp, Gabriela Levitus y Patricia Marconi

Todos los posters, incluyendo los seleccionados para presentación oral, se presentaron en el espacio interactivo Gather Town, el jueves de 10 de junio de 18 a 20 h, donde los autores debían estar frente a sus posters para facilitar la posibilidad de interacción con otros asistentes y responder las preguntas de los participantes

Para la selección de los ganadores del Premio REDBIO, la evaluación tuvo en cuenta varios atributos y características:

- Calidad del póster (significación científica y de impacto, innovación, creatividad y calidad comunicacional, estética, facilidad en la lectura).
- Calidad de la exposición oral (incluyendo didáctica, creatividad, calidad comunicacional, desenvoltura en la exposición y respuestas de las preguntas).
- Grado de avance, “volumen” de trabajo (algunos son más preliminares, otros son trabajos más completos).
- En caso de necesitar desempate, si la presentación oral está a cargo de un investigador/becario joven.
- Promoción de áreas del conocimiento y de aplicación como la microbiología, biotecnología veterinaria, disciplinas postgenómicas, etc.

Trabajos Ganadores:

- Los trabajos que componen la terna premiada se destacaron en la originalidad de la presentación, el aporte al conocimiento en el área, el impacto de sus investigaciones, además de balancear entre las áreas representadas en el congreso.

1º puesto premio “Póster REDBIO 2021”

BV70 “HaHB11, las olas y el viento”. Raineri, Jessica; Caraballo, L.; Franco, M.A.; Rigalli, N.F.; Portapila, M; Otegui, M.E.; Chan, R.L. Instituto de Agrobiotecnología del Litoral, IAL (CONICET-UNL), Santa Fe, Argentina; Centro Franco Argentino de Ciencias de la Información y de Sistemas, CIFASIS

(CONICET-UNR), Rosario, Argentina; Instituto de Investigaciones Fisiológicas y Ecológicas Vinculadas a la Agricultura, IFEVA (FAUBA-CONICET), C.A.B.A., Argentina.

2º puesto premio “Póster REDBIO 2021”

BA4 “Generación de deleciones en GGTA1 en embriones porcinos asistida por CRISPR-Cas9 como ADN o como complejo (proteína y ARN)”. La Motta, G.; Briski, O.; Ratner, L.; Salamone, D. Fernandez-Martin, Rafael. Laboratorio de Biotecnología Animal (LABBA) Facultad de Agronomía UBA, Argentina; Instituto de Investigaciones en Producción Animal (INPA) UBA-CONICET, Argentina; NewOrgans Biotech SA, Argentina.

3er puesto premio “Póster REDBIO 2021”

BM10 “Bioprospección de enzimas activas sobre carbohidratos codificadas en el genoma de *Pycnopus sanguineus*.” Garrido, Mercedes; Brunecky, R.; Landoni, M.; Campos, E.; Wirth, S. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, INTA, Argentina; Instituto de Biodiversidad y Biología Experimental y Aplicada, FCEN-UBA, Argentina; Chemical and Biosciences Center, NREL, USA; Centro de Investigaciones en Hidratos de Carbono, FCEN-UBA, Argentina.

- Dado que la calidad de los trabajos fue excelente, se decidió agregar a los premiados, 2 menciones al premio “Póster REDBIO 2021”.

1º Mención premio “Póster REDBIO 2021”

BV37 “Caracterización molecular mediante genotipificación por secuenciación de las razas VArg1 y VArg2 de *Verticillium dahliae* patógenas de girasol”. Aguilera, Pablo N.; Montecchia, J.F.; Ben Guerrero, E.; Quiroz F.; Heinz R.; Filippi C.; Trogia C.; Lía, V.; Martínez, M.C.; Paniego, N. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular, UEDD INTA-CONICET, Argentina; EEa Balcarce, INTA, Argentina.

2º Mención premio “Póster REDBIO 2021”

BV61 “Estudios de Mapeo por Asociación para la identificación de regiones genómicas involucradas en la resistencia a la avispa de la agalla y cancro del tallo en *Eucalyptus grandis*” García, M.N.; Aguirre, N.C.; Villalba, P.V.; Rivas, J.G.; Acuña, Cintia V.; Martínez, M.C.; Carreras, R.; Morán, M.; Arévalos, C.; Elizaul, J.; Hopp, H.E.; Grattapaglia, D.; Cisneros, E.F.; Marcucci Poltri, S.N. Instituto de Agrobiotecnología y Biología Molecular (IABIMO), UEDD INTA-CONICET, Argentina, Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), Santiago del Estero, Argentina; Desarrollos Madereros, S.A., Paraguay; Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Recursos Genéticos y Biotecnología, Brasília, Brasil.

Auspiciantes:



<http://redbioargentina.org.ar/>